FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

No 8

De l'Action des Vitamines B_1 et C sur la toxicité et la fixation du Salicylate de Soude

Travail du Laboratoire de Pharmacodynamie
et Matière Médicale de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Marseille

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 27 Mai 1944

PAR

Yvette CULIOLI

Née le 12 mars 1917 à Marseille (B.-du-Rh.)

Pharmacien

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse	MM.	MERCIER	*Président*
		VIGNOLI	*Assesseurs*
		BALANSARD	
		DELPHAUT	

Marcel LECONTE
Imprimeur-Éditeur
MARSEILLE
1 9 4 4

De l'Action des Vitamines B_1 et C sur la toxicité et la fixation du Salicylate de Soude

Travail du Laboratoire de Pharmacodynamie
et Matière Médicale de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Marseille

FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

No

De l'Action des Vitamines B_1 et C sur la toxicité et la fixation du Salicylate de Soude

Travail du Laboratoire de Pharmacodynamie et Matière Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marseille

THESE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 27 Mai 1944

PAR

Yvette CULIOLI

Née le 12 mars 1917 à Marseille (B.-du-Rh.)

Pharmacien

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse

MM. MERCIER — *Président*
VIGNOLI
BALANSARD
DELPHAUT — *Assesseurs*

Marcel LECONTE
Imprimeur-Éditeur
MARSEILLE
1 9 4 4

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

PERSONNEL DE LA FACULTE MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : L. CORNIL. *Assesseur :* F. MERCIER

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MM. MOITESSIER, CASSOUTE. OLMER, GAUJOUX, COTTE, AUBARET

Chargés de Cours honoraires : TIAN,

Secrétaire : J. COMTE *Bibliothécaire :* Mme PEROL

Professeurs

Anatomie	SALMON
Anatomie pathologique et Pathologie expérimentale.	CORNIL
Bactériologie	ROUSLACROIX
Chimie analytique et hydrologie	RIMATTEI
Chimie médicale	ROCHE
Clinique chirurgicale	FIOLLE
Clinique chirurgicale	BOURDE
Clinique exotique	HECKENROTH
Clinique des maladies nerveuses	ROGER
Clinique médicale	AUDIBERT
Clinique médicale	MATTEI
Cliniqne Médicale	MONGES
Clinique médicale infantile	GIRAUD
Clinique obstétricale	VAYSSIERE
Clinique ophtalmologique	JAYLE
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	BREMOND
Clinique urologique	CHAUVIN
Histoire naturelle	N....
Histologie	ROMIEU
Hygiène générale et coloniale	VIOLLE
Médecine légale	N.
Parasitologie	JOYEUX
Pathologie Chirurgicale	MOIROUD
Pharmacodynamie et Matière médicale	F. MERCIER
Pharmacie	VIGNOLI
Physiologie	MORIN
Physique	CHEVALLIER
Thérapeutique	POINSO.
Professeur sans chaire	DUBOULOZ
Professeur sans chaire	SAUTET
Professeur sans chaire	POURSINES

Chargés de cours

Clinique dermatologique ..... VIGNE
Hydrologie clinique et thérapeutique ..... PIERI

Agrégés en exercice

MM.	MM.
BERTHIER	DELPHAUT
BALANSARD	R. IMBERT
BRAHIC	PAILLAS
FIGARELLA	AUDIER
ARNOUX	DOR
CHOSSON	RECORDIER

Chargés des fonctions d'agrégé

Chimie médicale ..... DERRIEN
Physiologie ..... DONNET
Physique ..... ROUX
Anatomie ..... GRISOLI

Chargés de Cours complémentaires

Anatomie descriptive et topographique ..... SALMON
Chimie minérale ..... ARNOUX
Clinique de la tuberculose ..... BERTHIER
Clinique des maladies contagieuses ..... PERIOT
Clinique chirurgicale infantile ..... IMBERT
Clinique stomatologique ..... ACHARD
Clinique gynécologique ..... FIGARELLA
Médecine opératoire ..... DOR
Microbiologie (Pharmacie) ..... BOYER
Neuro-Chirurgie ..... ARNAUD
Obstétrique ..... CHOSSON
Pharmacodynamie (Pharmacie) ..... DELPHAUT
Psychiatrie ..... ALLIEZ
Toxicologie ..... GUILLOT
Physiologie végétale ..... PELISSIER

A MES PARENTS

En témoignage de ma reconnaissance
et de ma grande affection.

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A Monsieur le Professeur Fernand MERCIER

qui, après nous avoir accueillie dans son Laboratoire avec la plus grande bienveillance, nous fait aujourd'hui l'honneur de présider notre jury de thèse.

Témoignage de respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé Jean DELPHAUT

Pharmacien des Hôpitaux

qui nous a donné le sujet de cette thèse et guidé de ses précieux conseils

Grâce à ses obligeantes directives, nous avons pu mener à bien l'élaboration de notre travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère et profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur VIGNOLI

et à Monsieur le Professeur BALANSARD

Pharmacien-Chef des Hôpitaux

dont nous avons eu l'honneur d'être l'élève à la Faculté de Pharmacie.

Ils ont bien voulu accepter de juger ce modeste travail.

Nous les remercions très respectueusement.

A TOUS MES PROFESSEURS

DE LA FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Hommage reconnaissant.

Avant-Propos

Depuis un siècle environ qu'il a été découvert, le salicylate de soude a été l'objet de recherches nombreuses et variées.

Pour des raisons complexes, sa connaissance pharmacologique demeure imparfaite ; des opinions contradictoires se sont élevées à son sujet, surtout du point de vue de son action antirhumatismale, et on est certainement loin d'avoir tout dit sur ce sel dont l'étude est toujours d'actualité.

Dans le laboratoire de Pharmacodynamie et de Matière Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marseille, J. Delphaut le premier a repris cette question et dans un ouvrage paru en 1936, a réuni les principales données relatives au salicylate de soude.

Après lui, dans le même laboratoire, R. Paris en 1939 et P. Jouffret en 1941 ont publié respectivement une étude sur deux points particulièrement intéressants de ce sujet : la fixation et la toxicité du salicylate de soude.

Plusieurs auteurs, en effet, ont voulu voir une corrélation entre l'action thérapeutique du salicylate de soude et la quantité de médicament fixée par l'organisme.

Dans leurs thèses, R. Paris et P. Jouffret se sont attachés à montrer les modifications apportées par un certain nombre de corps à la toxicité et à la fixation du salicylate de soude.

Certains corps chimiques, en effet, modifient la toxicité cardiaque et la fixation au niveau du myocarde du salicylate de soude. Ces modifications peuvent être d'un grand intérêt pratique : la plupart des auteurs sont d'accord pour reconnaître que le résultat thérapeutique du salicylate de soude est d'autant plus favorable que la quantité de ce sel fixée par les tissus est plus grande. Il semble très simple, à première vue, d'atteindre ce but en augmentant de plus en plus les doses de ce médicament. Mais on se heurte là à de grosses difficultés : dès que l'on dépasse certaines doses, le salicylate donne

naissance à des troubles importants (intolérance gastrique, effets toxiques sur les reins et le foie) dangereux pour le malade.

Quelques auteurs ont eu l'idée de « tourner la difficulté » en essayant d'augmenter la fixation et de ce fait l'action du salicylate de soude par des associations médicamenteuses.

C'est ainsi que, lors de recherches antérieures, il a été montré que le bicarbonate de soude, le gardénal, l'aminophylline (théophylline-éthylène-diamine), la spartéine diminuent l'action nocive du salicylate sur le cœur ; de même, la papavérine, la spartéine, le gardénal augmentent la fixation de ce sel au niveau du myocarde.

Sur les conseils de Monsieur le Professeur Agrégé J. Delphaut, et sous ses bienveillantes directives, nous avons poussé nos recherches dans ce même sens et nous avons étudié, dans leurs effets, les associations des vitamines hydrosolubles C et B_1 et du salicylate de soude.

— Nous avons groupé dans une PREMIÈRE PARTIE un rappel de notions élémentaires concernant le salicylate et les vitamines que nous lui avons associées.

— Dans une DEUXIÈME PARTIE, nous avons exposé les techniques expérimentales utilisées et les résultats de nos expériences de toxicité et de fixation obtenues d'abord avec une solution de salicylate pur, puis avec des solutions contenant respectivement des doses variées de vitamines C et B_1.

— Enfin, nous avons placé dans une DERNIÈRE PARTIE, un tableau récapitulatif de nos expériences et les conclusions que nous avons cru pouvoir en tirer.

PREMIÈRE PARTIE

I

Le Salicylate de Soude

La documentation bibliographique sur ce corps est d'une grande complexité. Comme nous le disions précédemment, J. Delphaut en 1936 a « fait le point » à ce sujet.

Peu d'indications nouvelles concernant le salicylate ont été apportées depuis cette date ; nous nous contenterons donc de résumer les données fournies par la thèse de J. Delphaut.

C'est à Piria que nous devons la découverte de l'acide salicylique en 1838. Avant lui, en 1830, Ledoux avait retiré de l'écorce de saule blanc (Salix Alba) un glucoside cristallisé : la salicine. Ce glucoside, traité par l'acide sulfurique et le bichromate de potassium se transforme en aldéhyde salicylique. Et c'est en fondant ce composé avec de la potasse caustique que Piria découvrit le salicylate de potassium, puis l'acide salicylique.

On peut facilement retirer l'acide salicylique de l'essence de Wintergreen (Gauthleria Procumbeus) qui est très riche en salicylate de méthyle et de l'essence de Reine des Prés (Spirae Ulmaria) qui renferme beaucoup d'aldéhyde salicylique.

Le premier procédé industriel de préparation purement chimique du salicylate de soude est dû à Kolbe et Lautemann (1868) et fut perfectionné par Schmitt. Les études expérimentales, dont les premières remontent à 1874-75 avec Bochefontaine en France, Féser et Friedberger puis Koehler en Allemagne, sont nombreuses et une foule d'auteurs ont contribué à ce travail. Les résultats sont souvent contradictoires ; cependant, les travaux de Stricker en Allemagne (1876), de Buss en Suisse, Servator en Angleterre, et surtout de G. Sée (1877), puis de Vincent (1928) en France, classent

le salicylate parmi les médicaments les plus actifs dans le cas du rhumatisme articulaire aigu.

Le salicylate de soude a eu, à côté de cela, des périodes de notoriété comme antiseptique interne dans certaines maladies infectieuses (Thiersch 1872). Mais ce fut là un état transitoire de même que sa vogue comme antipyrétique dans les fièvres intermittentes (1875-76).

Par contre, ces dernières années, son usage s'est étendu d'une façon très efficace à d'autres affections où on l'utilise par voie intra-veineuse : encéphalite épidémique (Carust 1923) ; sclérose en plaques (Carnot) ; Chorée (Dresh) ; en thérapeutique oculaire et dans le traitement sclérosant des varices (Sicard 1922).

Très répandu dans le monde végétal : fruits, racines de Senega, Rue, essences de Wintergreen et de Bouleau qui contiennent environ 90 % de salicylate de méthyle, l'acide salicylique ou orthoxybenzoïque, avant que la synthèse chimique fût connue, était préparé par saponification du salicylate de méthyle ou par oxydation de la saligénine. Sa formule est la suivante :

Salicylate de Sodium

Le salicylate de soude officinal se présente sous forme d'aiguilles incolores et inodores de la saveur à la fois salée et sucrée. Il doit être anhydre. Son poids moléculaire est de 160.

Il est soluble dans l'eau, moins soluble dans l'alcool et presque insoluble dans l'éther pur. Il s'altère à la lumière mais il est peu sensible à l'action de la chaleur. Son soluté aqueux à 10 % est neutre au tournesol ; les acides dilués le décomposent en mettant l'acide salicylique en liberté.

On utilise ses solutions comme solvant de la caféïne, de l'hexétone, des huiles volatiles et de leurs constituants.

Il donne des incompatibilités physiques avec certains corps tels que l'antipyrine (formation d'un mélange sirupeux), l'acide borique et les borates, l'iode et la quinine.

Le salicylate provoque la fonte de la gélatine solidifiée.

Sa solution aqueuse se colore en violet par quelques gouttes de perchlorure de fer (réaction de la fonction phénolique). Elle doit être limpide et incolore (pas de fer) ; additionnée d'acide sulfurique dilué elle ne doit pas dégager de gaz carbonique (absence de CO_3NaH).

Un gramme de salicylate décomposé par l'acide sulfurique, incinéré doit donner entre 0,435 et 0,453 de sulfate de sodium. Il présente comme réaction caractéristiques celles du

sodium et de l'acide salicylique, à savoir que sa solution décolore l'eau bromée ; chauffé avec de la chaux vive, le salicylate dégage du phénol à odeur caractéristique ; additionné d'acide chlorhydrique et épuisé par le chloroforme, il donne une liqueur qui laisse cristalliser l'acide salicylique. Plusieurs méthodes de dosage lui sont applicables :

Dosage acidimétrique qui consiste à déplacer l'acide salicylique par un acide fort dont on dose l'excès.

Méthode mercurimétrique.

Méthode au brôme et à l'iode.

Dans l'urine, on peut le caractériser directement par le perchlorure de fer ; mais il vaut mieux extraire l'acide salicylique par l'éther et l'acide sulfurique et doser colorimétriquement. Le même procédé est applicable pour le sérum. Le dosage le plus intéressant est certainement celui du Codex 1937, qui consiste à doser l'acide salicylique contenu dans le salicylate à l'état de corps rouge de Lautemann. Voici le mode opératoire :

On dissout 0,30 gr. du sel dans 100 cc. d'eau renfermant 5 cc. de lessive de soude et on porte la solution vers 95°. On ajoute un excès de liqueur iodo-iodurée. Il se forme un précipité rouge brun abondant. On maintient au Bain-Marie bouillant pendant 1 heure en présence d'un excès d'iode et on laisse refroidir. L'excès d'iode est éliminé par addition ménagée de sulfite de sodium et le précipité recueilli sur double filtre taré ou mieux sur creuset filtrant. Après lavage, il est séché à 100°, puis pesé ; soit p.

Le poids d'acide salicylique correspondant est :

$$p \times 0{,}40146$$

Le sel officinal doit renfermer au moins 85,39 % d'acide salicylique, ce qui correspond à une impureté de 99 %.

Quelle que soit sa voie d'introduction, le salicylate est rapidement absorbé : par voie buccale, il est décomposé dans l'estomac grâce à l'acidité du milieu et libère l'acide salicylique ; puis il repasse dans le sang à l'état de salicylate ; la salicylémie apparaît 10 minutes près et est maxima, 1 heure à 1 heure 1/2 après l'ingestion. Elle se prolonge 12 heures.

Par voie veineuse, le salicylate est immédiatement apporté au contact du sang et son élimination est plus rapide. Il faut signaler que l'acide salicylique libre n'existe pas dans les tissus et, du sang, le salicylate de soude pénètre dans tous les organes.

Le salicylate est sans influence sur le métabolisme basal de l'homme ; l'azote protéïque du sang reste inchangé ainsi que la créatine. Par contre, il diminue l'excrétion du chlore, de même que celle du soufre total, de l'azote total urinaire et des sulfates organiques et inorganiques. Son action se fait

sentir également sur l'excrétion urinaire des matières colorantes normales, des phosphates et des matières fixes.

L'élimination du salicylate est rapide. Le temps d'excrétion est variable pour les mêmes doses avec les individus. Mais la durée de cette excrétion ne se prolonge jamais guère plus de 36 heures après la cure. Elle est plus rapide chez les herbivores que chez les carnivores. L'élimination est retardée dans certaines maladies (fièvre typhoïde). Chez le rhumatisant l'excrétion est diminuée d'environ 10 % par rapport à l'individu normal.

De même l'excrétion du salicylate est diminuée dans l'alcoolisme, la tuberculose, le morphinisme, la néphrite et les maladies de l'appareil circulatoire.

L'adjonction de bicarbonate de soude ne hâte pas cette excrétion. Pour l'organisme normal, il ne semble pas y avoir de seuil hépatique, ni rénal d'élimination. On retrouve le salicylate absorbé dans tous les organes et dans tous les épanchements. L'urine en est le principal émonctoir (90 %). Il semble que la plus grande partie est excrétée telle quelle ou conjuguée avec les acides sulfuriques et glucuroniques.

Pour ce qui est de sa toxicité, J. Delphaut note que la dose toxique par perfusion chez le chien est comprise entre 100 et 106 cgr. p. k. Le chiffre moyen serait de 102 cgr. p. k. L'adjonction de bicarbonate de soude l'abaisse de 50 %. De même, les tonicardiaques (Digitaline, Ouabaïne et glucosides de l'Adonis) diminuent la toxicité s'ils sont administrés à doses convenables ; en effet, à doses trop fortes et nocives pour le cœur, on obtient le résultat opposé.

Le salicylate a également une légère action sur la pression artérielle : injectées par voie intra-veineuse des quantités convenables de salicylate entraînent une diminution des réflexes hypertenseurs.

Sur le cœur, à doses faibles ou moyennes, le salicylate agit en provoquant une légère accélération et une augmentation de force. A doses toxiques ou fortes, il entraîne des irrégularités et l'arrêt du cœur en diastole.

Son action sur le sang est également à signaler : in vitro, à la concentration de 1 %, il retarde la coagulation du sang De faibles doses abaissent la teneur de ce dernier en acide urique. Les fortes doses produisent des effets contraires surtout en diminuant la quantité des urines émises.

Son administration abaisse la réserve alcaline du plasma.

Enfin le salicylate est hypoglycémiant et diminue la viscosité sanguine de l'animal vivant.

Notons également son action sur la respiration que les fortes doses de ce sel accélèrent d'une façon notable ; l'ad-

ministration de doses croissantes provoque la dyspnée et l'asphyxie terminale.

Les auteurs ne sont pas d'accord sur son influence sur l'intestin que les uns prétendent nulle, alors que d'autres estiment qu'elle peut se manifester.

Le salicylate a également un rôle dans les sécrétions : à doses convenables, il est diurétique en augmentant le volume des urines émises ; c'est également un cholagogue faible à action fluidifiantes sur la bile ; mais loin d'être cholérétique, il diminuerait la biligénèse.

Antipyrétique (c'est-à-dire capable de diminuer la température uniquement sur des organismes naturellement ou artificiellement fébricitants) plutôt qu'antithermique (mêmes propriétés sur un organisme sain) il agit dans le premier sens sur la température.

D'autres actions lui sont attribuées, en particulier un pouvoir antiseptique faible ; mais celui-ci n'apparait vraiment que lorsque l'acide salicylique est libéré. De même, son action sur le système nerveux n'est pas très grande : de faibles doses donnent parfois une tendance au sommeil tandis que, aux doses thérapeutiques moyennes il possède peu d'action sur les centres nerveux supérieurs. Ces doses thérapeutiques varient avec les individus et surtout les doses toxiques; en effet, les Codex donnnt tous des indications différentes :

Codex français : 2 gr. 12 gr. à l'ancien Codex ; pas de doses au Codex 1937.

Codex italien : 4 gr. 10 gr.

Codex espagnol : 0,50-1 gr. 8 gr.

Les codex américain, britannique, hollandais donnent pour une dose des chiffres compris entre 0,80 gr. et 2 gr.

En thérapeutique, le salicylate est essentiellement le remède du rhumatisme articulaire aigu sous toutes ses formes et on l'a associé, dans le but de le rendre plus efficace, à de nombreux corps dont l'action est souvent discutable.

II

La Vitamine B1

L'étude des vitamines du groupe B_1 est relativement récente. C'est à la fin du siècle dernier que le médecin hollandais Eijkmann fit, dans un pénitentier de Java, le rapprochement entre l'apparition d'une maladie très connue en Extrême-Orient, le Béri-Béri et la consommation prolongée et exclusive de riz poli.

L'étude du béri-béri expérimental devait confirmer l'hypothèse de l'existence, dans le son de riz, d'une substance empêchant l'éclosion des troubles et provoquant la guérison de ceux déjà existants.

Ce n'est qu'en 1911 que Funk isola du son de riz une préparation très active du facteur antibéribérique et, y découvrant la présence d'azote, lui donna le nom de Vitamine, c'est-à-dire amine indispensable à la vie.

Puis le nombre de vitamines identifiées s'étant multiplié, le besoin d'une classification et d'une nomenclature se fit sentir et l'on choisit la désinence par lettre alphabétique : la vitamine antinévrétique en particulier reçut la lettre B.

La vitamine B était jusque là considérée comme une vitamine unique. C'est en 1927 seulement que, au cours de leur expérimentation chez le pigeon, Mme Randouin et Lacoq distinguèrlnt un *facteur antinévrétique proprement dit* et un facteur qu'ils désignèrent sous le nom de *facteur d'utilisation nutritive*. Celui-ci devait d'ailleurs, par la suite, être lui-même dédoublé en *vitamine d'utilisation nutritive proprement dite* et *vitamine d'utilisation cellulaire*. Enfin, l'expérimentation sur le rat a également permis d'isoler deux nouvelles vitamines qui reçurent le nom de *facteurs de croissance* et furent reconnues comme différentes de celles du pigeon. On se trouvait donc en présence de 5 vitamines B.

On les classe en : vitamine B_1 ou antinévrétique

» B_2 Vitamines de croissance
» B_4 du rat.
» B_3 Vitamines de croissance
» B_5 du pigeon.

Au groupe des vitamines B se rattachent les vitamines antidermatosiques B, H et PP.

Nous avons seulement utilisé dans nos associations médicamenteuses avec le salicylate, la vitamine B_1.

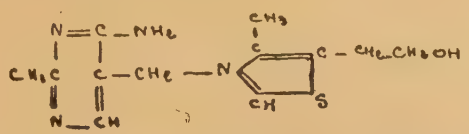
Voici brièvement résumées, quelques notions la concernant :

La vitamine B_1 a pour formule brute $C_{12}H\ N_4OS$. Elle donne des sels bien cristallisés et se dissout facilement dans l'eau et dans l'alcool.

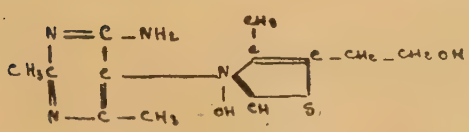
L'étude chimique de cette vitamine, encore nommée, thiamine ou aneurine, a longtemps été retardée par la difficulté d'obtenir la substance en quantités suffisantes.

C'est seulement en 1934 que Williams et ses collaborateurs mirent au point un procédé permettant de retirer d'une tonne de polissures de riz 5 gr. environ de la vitamine. Tandis que Williams en Amérique, poursuivait ses recherches sur la constitution de ce corps, Windaus en Allemagne se livrait à des travaux analogues.

Sans être définitivement acquise, sa formule de constitution peut être représentée par l'une ou l'autre des deux structures proposées par Williams (1935) et Windaus (1936) qui sont d'ailleurs très voisines.



Vitamine B_1 : formule de Williams.



Vitamine B_1 : formule de Windaus.

On a caractérisé dans la molécule de vitamine B_1, la présence de deux groupes basiques dont l'un est quaternaire Oxydée par l'acide azotique, elle est scindée en deux parties

nettement définies ; l'une est un dérivé éthylique ou diméthylique d'une dioxypyrimidine (noyau pyrimidine), l'autre un thio dérivé d'un acide pyrrolcarbonique (noyau thiazolique).

Cette vitamine B_1 est apparentée à une substance jaune cristallisée, extraite de la levure, ayant une fluorescence bleue en solution, désignée sous le nom de thiochrome ; celui-ci apparaît en effet comme la déhydrovitamine B_1, fait qui a été confirmé par la transformation en thiochrome de la vitamine B_1 lorsqu'on oxyde cette dernière, en milieu alcalin, par le ferricyanure de potassium ou l'eau oxygénée.

Très répandue dans la nature, la vitamine B_1 trouve sa source principale dans la levure de bière et les grains de riz ; épinards, pois, carottes, choux, salades, haricots, lait de vache, jaunes d'œufs, cœur, cervelle et foie en renferment de petites quantités.

Sa carence donne naissance à des troubles du métabolisme glucidique avec accumulation dans les tissus, d'acide pyruvique et d'acide lactique. Chez l'homme, il en résulte une série de troubles du système digestif du système nerveux et du système circulatoire qui, dans les cas graves constituent l'affection bien définie du béri-béri.

Chez les animaux d'expérience comme le pigeon et le rat, la carence en vitamine B_1 se traduit rapidement par des symptômes polynévrétiques.

Par contre, les bovidées, soumis à la carence en vitamine B_1 s'en accommodent fort bien et cela, non point parce que la vitamine B_1 leur est inutile, mais parce que leurs bactéries intestinales sont capables d'en faire la synthèse.

Le besoin de l'homme et des animaux en cette vitamine n'est pas constant et il est étroitement lié à la richesse de l'alimentation en glucides. Les Américains ont établi une formule de la dose quotidienne nécessaire : si B représente la quantité de vitamine B_1 exprimée en grammes, de levure sèche et P le poids en grammes de l'animal, on a : $B = P\ 5/3 \times K$, K étant une constante propre à chaque espèce animale et décroissant au fur et à mesure que la taille augmente. On pense que l'homme doit absorber journellement 0,5 mmgr. de vitamine pure.

Les dosages de cette vitamine B_1 fait l'objet de très nombreuses recherches ; on peut les classer en 4 groupes :

I — Tests de croissance.

a) - Tests de croissance sur les animaux (rats, souris, insectes). Cette méthode longue et coûteuse demande une alimentation compliquée. Par ailleurs, le phénomène de « réfection » (c'est-à-dire la mauvaise digestion de l'amidon qui,

sous l'influence de la flore intestinale, synthétise la vitamine B_1) interfère. En définitive, ces tests ne sont ni très nets, ni spécifiques.

b) - Tests de croissance sur les microorganismes et les tissus végétaux : le plus intéressant est le test de Schopfer sur la croissance du Phycomycès qui montre que celle-ci est stimulée par la vitamine B_1. Mais cette réaction n'est pas spécifique car le Phycomycès est également capable de réagir avec des produits ayant longuement séjourné à l'autoclave et étant de ce fait inactivés.

II — Tests fondés sur des troubles caractérisés.

a) - Test de polynévrite aviaire, d'ailleurs très peu précis.

b) - Test de Bradycardie du rat : basé sur le fait que la carence en vitamine B_1 se manifeste très rapidement chez cet animal par un ralentissement du pouls ; l'administration de vitamine provoque une accélération : de son intensité et de sa durée en déduit la dose mise en œuvre. Cette méthode est une des meilleures et des plus spécifiques mais elle demande un matériel très coûteux, ce qui réduit son usage.

III — Tests biochimiques.

a) - Catatorulintest : le tissus cérébral du pigeon polynévrétique oxyde le glucose ou l'acide lactique in vitro, beaucoup moins facilement que le cerveau du pigeon normal.

L'addition de vitamine B_1 restitue au tissus malade, son activité et l'augmentation est sensiblement proportionnelle à la quantité de vitamine ajoutée.

b) - Fermentation alcoolique : les expériences ont montré qu'elle était accélérée en présence de vitamine B_1.

IV — Dosages chimiques.

a) - Méthode au thiochrome : Peu sensible.

b) - Azotest : Méthode basée sur la formation d'un complexe insoluble dans l'eau et de couleur pourpre en présence de paraaminoacétanilide ou de paraaminoacetophénone, préalablement traités par l'acide nitreux. Cette méthode est certainement une des moins bonnes.

c) - Méthode de Roux : La plus récente ; elle a pour base l'apparition d'un maximum dans le spectre d'absorption ultra-violet d'une solution d'aneurine alcalinisée à 4 % de soude ; ce maximum est fugace en sorte que la variation d'absorption ultra-violette est proportionnelle à la quantité de vitamine B_1 présente dans la solution étudiée ce qui rend cette méthode d'une rigoureuse spécificité.

III

La Vitamine C.

L'acide ascorbique n'appartient qu'accidentellement aux vitamines, la plupart du temps, il est seulement un des constituants normaux de l'organisme et son rôle essentiel est celui d'un catalyseur ; il en est ainsi pour le chien ou le lapin. Ils fabriquent eux-mêmes leur acide ascorbique qui devient, chez eux, une véritable hormone.

Par contre, chez certaines espèces (l'homme en particulier, le cobaye) qui sont incapables de le synthétiser, il constitue une véritable vitamine qu'elles sont obligées d'emprunter aux végétaux. Les premières notions sur ce corps remontent à l'année 1907 où Hôlst et Frôhlich mirent en évidence le facteur antiscorbutique.

C'est Szent-Gyôrgi qui, en 1933 l'isole et reconnait sa vraie nature.

Depuis, de très nombreux travaux ont été effectués sur ce produit et une grande quantité de documents d'ordres chimiques, physiologique, physique, biologique, médical et thérapeutique sont venus compléter les premières recherches.

La vitamine C est très répandue dans la nature où les végétaux en sont les meilleures sources ; presque tous en renferment, mais certains fruits (oranges, citrons, pamplemousses, mûres) en contiennent des quantités considérables.

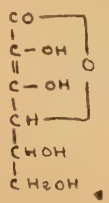
L'acide ascorbique est constant sauf chez les champignons et quelques espèces hétérotrophes. Il fait défaut chez les levures et les bactéries et manque absolument chez les champignons supérieurs.

Le règne animal, au contraire, ne fournit en général qu'un apport secondaire de vitamine C. Il faut cependant faire une exception pour le lait qui renferme un pourcentage intéressant de ce corps, et il faut également citer, dans le règne

animal, la classe des invertébrés, mollusques, crustacés, dont la valeur est d'autant plus appréciable qu'ils se consomment crus ; en particulier le pouvoir antiscorbutique des huîtres est prouvé.

Notons ici, que le stockage, la mise en conserve et bien souvent la préparation culinaire contribuent à diminuer la richesse naturelle des aliments en vitamine C.

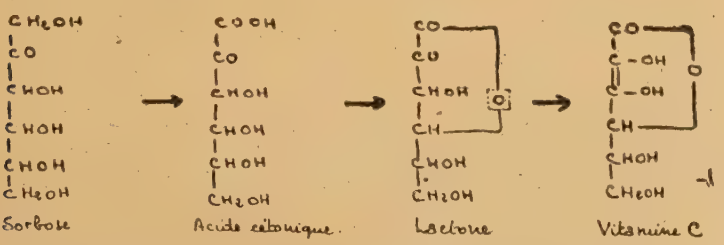
La constitution chimique de ce corps est bien établie : en découvrant l'acide ascorbique en 1933, Szent-Gyôrgi lui donne la formule globale $C_6H_8O_6$. Ce corps appartient aux hétérocycliques pentagonaux oxygénés. Ce sont Haworth, Hirst et Michel qui ont établi la formule développée



Acide ascorbique

On peut en effet le considérer comme dérivant d'une cétose, le sorbose par exemple par :

1) Oxydation de l'alcool primaire du carbone I en carboxyle
2) Estérification interne entre ce carboxyle et l'hydroxyle alcoolique secondaire du carbone 4 avec formation d'une fonction lactone.
3) Enolisation de la fonction cétone.



Sorbose — Acide cétonique — Lactone — Vitamine C

Le groupement fonctionnel important consiste dans la juxtaposition des 2 hydroxyles énoliques séparés par une liaison :

Il est en effet susceptible de s'oxyder aisément par l'iode ou la quinone en conduisant à l'acide déhydro-ascorbique lequel, inversement, est facilement réduit en acide ascorbique par l'hydrogène sulfuré.

Plusieurs modes de synthèse de la vitamine C ont été réalisés ; en particulier on obtient à partir du paprika sous la forme de cristaux fins, incolores, de point de fusion 189° avec décomposition et de point de fusion instané 192°. Le produit officinal est facilement soluble dans l'eau à 45° ; beaucoup moins dans l'eau à 100°, et très soluble dans l'alcool et l'acétone. Sa solution aqueuse est acide et s'altère rapidement à l'air par oxydation ; la chaleur active cette destruction. Réducteur puissant, l'acide ascorbique réduit à froid le nitrate d'argent en solution acide de même que le réactif suproalcalin ; sous l'action d'une lumière intense, il décolore le bleu de méthylène. Enfin il réduit à la lumière ordinaire certains colorants comme le 2-6-dichlorophénol-indophénol et cette particularité sert de base à une méthode de dosage de la vitamine C : la solution de dichlorophénol vire du bleu au rouge sous l'influence de l'acide ascorbique.

Il existe sous deux formes stéréo-isomères : la vitamine C est l'acide l-ascorbique ; l'isomère d est dépourvu de toute action vitaminique.

Pur et cristallisé, l'acide ascorbique est stable à l'air sec et à la lumière ; le Codex recommande de le conserver de préférence dans des flacons en verre bien bouchés et dans un endroit frais.

Le produit officinal doit titrer cent pour cent d'acide ascorbique, et pour calculer ce pourcentage, le *Codex* indique les méthodes suivantes :

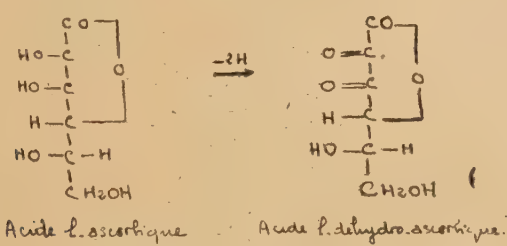
1) Dosage acidimétrique : Préparez une solution aqueuse à 2 % d'acie ascorbique : le pH de cette solution devra être de 2,2. Titrez 10 cc. de cette solution par la solution décinormale de soude : 1 cc. de la solution N/10 de soude = 0,0176 d'acide ascorbique. Calculez le pourcentage.

2) Dosage iodométrique : Dissolvez une prise d'essai voisine de 0,10 gr. exactement pesée d'acide ascorbique dans 100 cc. d'eau distillée récemment bouillie. Titrez avec la solution centinormale d'iode, en présence d'empois d'amidon.

1 cc. de la solution N/100 d'iode = 0,00088 d'acide ascorbique. Calculez le pourcentage.

D'autres méthodes de dosage ont été proposées pour la vitamine C. : *méthodes biologiques* basées sur l'évolution pondérale et la survie des animaux soumis à un régime de vitamine C et recevant des quantités de plus en plus petites du produit à étudier ; *méthode biochimique* qui complète la méthode biologique en dosant l'acide ascorbique fixé d'une

façon élective dans les divers organes ; enfin *méthodes chimiques*, entre autres, la méthode de Berzssonof (avec l'acide phospho-molybdo-tungstique), la méthode basée sur la réduction du dichlorophénol-indophénol, et le dosage à la dinitrophénylhydrazine.



L'oxydation reversible de l'acide ascorbique est à la base de ses propriétés fonctionnelles.

L'acide déhydro-ascorbique a une stabilité imparfaite en milieu neutre ou alcalin. Il peut, entre autres, se transformer en acide dicétogulonique qui, physiologiquement, n'est plus actif. C'est probablement la raison principale de l'usure de l'acide ascorbique au cours de son activité fonctionnelle et par suite, c'est la cause fondamentale des besoins.

Il y a cependant, surtout chez les organismes non carençables une apparente stabilité. Celle-ci serait due au fait que certaines substances sont capables de protéger l'acide ascorbique de l'oxydation. Ainsi, de Caro et Giani ont montré que l'oxydation de l'acide ascorbique est empêchée par les extraits (spécialement les extraits alcooliques) des tissus. Parmi les substances organiques inhibitrices essayées, ils ont noté l'acide adénylique et surtout le glutathion et la cystéine et ils attribuent principalement à ces substances le rôle d'agents de protection.

Des faits analogues ont été observés par l'oxydation par le nitrate d'argent « in vivo » par Huszak, Giroud, Leblond, Ratsimamanga, M. Rabinowickz, Mendive et Deulsfen et « in vitro » par Emmeric, Svirbeley, Bersin, Kôster et Jusatz.

L'existence dans les tissus de substances protectrices a une importance pratique puisque, pour une part, les substances doivent assurer la stabilité relative de l'acide ascorbique après la mort. En effet, la cadavérisation n'entraîne que lentement la disparition de la vitamine (Giroud, Ratsimamanga) ce qui, pour l'étude de l'homme est d'une grande utilité.

Le rôle physiologique de l'acide ascorbique est très important.

In vivo, la vitamine C paraît être un des principaux *facteurs du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire*. Mais la déter-

mination in vitro de ce potentiel a donné lieu à des résultats assez discordants.

Dans les *oxydations*, son rôle paraît être essentiellement, du fait de ses propriétés d'oxydation réversible, celui de transporteur d'hydrogène. Elle agirait comme *activateur* sur les *enzymes*. Elle interviendrait également dans la *désamination des acides aminés* ; par exemple, elle est capable de dégager une molécule de NH_3 de l'histidine.

Comme corollaire de ses propriétés activatrices, l'acide ascorbique a un *rôle dans les processus de dégradation et de synthèse.*

Sur les divers tissus mésenchymateux, sa carence provoque des troubles sinon graves du moins caractéristiques. Le mécanisme reste imprécis mais l'importance de l'acide ascorbique est évidente pour toute une série de dérivés du mésenchyme (tissus osseux, dentaire, endothélium vasculaire).

Le taux de l'acide ascorbique n'est le même ni pour les divers tissus ni pour les divers organes : il est spécifique de chaque fonction.

L'intervention de l'acide ascorbique est manifeste sur les glandes endocrines : sur *la thyroïde* et *la parathyroïde*, la vitamine C a un rôle freinateur sur la physiologie de ces deux organes. Son administration ralentirait les échanges gazeux alors que ceux-ci sont augmentés dans l'hyperthyroïdie, et on a même pensé à l'utiliser pour le traitement de cette affection.

L'acide ascorbique a également un rôle important sur la *médullo-surrénale* ; en effet, on lui attribue le pouvoir de protéger in vitro l'adrénaline contre l'oxydation. On a observé que sa présence accentuait l'action de l'adrénaline sur l'animal (Kasahara et Kawamura). L'étude de la carence a montré que la vitamine C se comporte comme un inhibiteur de la médullo-surrénale et que, au cours de cette carence, le taux de l'adrénaline augmente considérablement, surtout dans la deuxième phase de celle-ci (20 mmg. par gramme au lieu de 7). Simultanément, il y a augmentation de cette hormone dans le sang circulant. Sur l'*hypophyse*, selon Moedo, la carence en vitamine C entraînerait une augmentation de l'hormone mélanophoradilatatrice (fait qui a été confirmé par Giroud et Ratsimamanga).

L'acide ascorbique jouerait également un rôle sur l'*ovaire* car il serait nécessaire à la production de l'hormone du corps jaune, la progestérone. Enfin son importance est capitale dans la fonction de la *cortico-surrénale* au point de vue de la production des hormones de ce corps ; l'épreuve de la carence met ce fait en évidence : en effet, au cours de la suppression d'acide ascorbique chez le cobaye, l'hormone corticale diminue progressivement et parallèlement à la dis-

parition de l'acide ascorbique ; inversement, il suffit de redonner de l'acide ascorbique pour que l'hormone surrénale reprenne ses valeurs primitives.

Il faut noter également l'influence considérable de l'acide ascorbique sur la *résistance générale de l'organisme* : en particulier, les propriétés bactéricides du sang varient en fonction de l'état de vitaminisation.

Dans la majorité des cas, l'acide ascorbique est simplement un des constituants normaux de l'organisme qui le synthétise selon ses propres besoins : c'est le cas chez le rat, le pigeon, le poulet, le canard, le dindon, le faisan et le porc.

La capacité de synthèse est discutée pour le chien, du moins dans le jeune âge, et le lapin. Mais l'homme, le singe, le cobaye ne peuvent pas se passer de l'apport extérieur de l'acide ascorbique. C'est l'alimentation qui doit fournir cet apport. Une des questions les plus importantes est de connaître les besoins en ce corps. De nombreux auteurs se sont attachés à les déterminer : pour le cobaye, les expériences ont prouvé que les besoins réels de l'animal carençable dépassent de beaucoup les quantités de vitamines nécessaires pour éviter les accidents typiques du scorbut.

Il y a en général pour chaque organe une valeur caractéristique de l'acide ascorbique ; et chez toutes les espèces, on retrouve toujours la même valeur pour chaque organe ; ce sont les taux d'acide ascorbique spécifiques pour chaque tissus ou chaque organe que l'on désigne sous le nom de « taux normal ». Ce taux normal est nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme carençable et sa réalisation doit être assurée. L'ensemble des expériences a prouvé qu'il fallait, pour le réaliser, donner des doses considérables (10-20 mgr. d'acide ascorbique) et que des quantités de 1 à 2 mgr. étaient nettement insuffisantes.

Comme le cobaye, l'homme est sensible à la privation de vitamine C qui provoque chez lui l'apparition du scorbut. Les doses nécessaires pour empêcher le scorbut et même pour amener sa guérison ne sont que de quelques milligrammes. Mais il faut fournir à l'individu, non seulement les quantités minima destinées à parer à l'avitaminose C, mais les quantités permettant d'assurer le fonctionnement optimum de l'organisme. Il faudrait pour cela (Goethlin) un minimum de 30 mgr. On a cherché à établir les besoins journaliers de l'homme et de l'enfant et on est arrivé à cette conclusion que :

une quinzaine de milligrammes sont déjà suffisants pour empêcher la carence vraie (scorbut), dose qui est facile à assurer mais qui ne laisse qu'une légère marge de sécurité ;

50 milligrammes assurent déjà une marge de sécurité

assez grande ; mais seule la réalisation du taux normal ou taux de saturation (dont la valeur n'est d'ailleurs pas absolue) correspond à l'idéal fonctionnel et il faut essayer de l'assurer. Ceci peut se faire avec des doses de 70 à 110 mgr. (1 mgr. 1,5 mgr. p. K.) qui sont les doses les plus recommandables et les seules permettant de se rapprocher de l'optimum physiologique. Les quantités de vitamines souhaitables sont, en définitive, celles qui mettent l'organisme humain sur le même plan que la majorité des organismes capables d'eux-mêmes de synthétiser l'acide ascorbique. Szeut-Gyôrgi avait déjà exprimé ceci en disant que :

« La quantité de vitamine C indispensable n'est pas celle avec laquelle on n'est pas encore malade, mais bien celle avec laquelle la santé ne peut plus être améliorée ».

Les faits sont les mêmes chez l'enfant à cette différence près que ses besoins sont, en général, supérieurs à ceux de l'adulte ; le nourrisson surtout a des besoins importants (de l'ordre de 8 à 10 mgr. p. K.) Ces besoins sont moindres pour l'enfant : de 2 à 3 ans Widenbauer préconise 21 à 25 mgr (le même auteur indique pour l'adulte 26 à 28 mgr.)

Les données précédentes concernaient seulement l'individu placé dans les conditions normales et au repos. Elles varient avec de nombreux facteurs : âge, facteurs hormonaux (l'hyperactivité thyroïdienne par exemple favorise le développement du scorbut), facteurs individuels (les besoins d'un individu à un autre peuvent facilement différer de 1/3), gravidité (cet état entraîne fréquemment une hypovitaminose marquée), lactation (qui accroît également les besoins). Enfin, le travail détermine une augmentation de besoin en acide ascorbique, augmentation qui peut aller de 1/3 à 1/2 de la dose de repos, soit pour couvrir les besoins résultant du travail lui-même, soit pour couvrir ceux demandés par l'utilisation des éléments énergétiques absorbés qui exigent plus d'acide ascorbique.

Dans un grand nombre de maladies infectieuses, on a également constaté un appauvrissement considérable de l'organisme en vitamine C. Les expériences faites dans ce domaine ont amené les auteurs à dire qu'il y avait dans ce cas « hypovitaminose secondaire » et que les besoins pouvaient alors passer du simple au double. On s'est demandé si l'organisme était capable d'avoir des réserves de vitamine C. Or, en fait le taux de l'acide ascorbique est relativement fixe dans les divers organes chez tous les organismes qui sont capables de le synthétiser ; il n'est pas non plus obsolument quelconque chez les organismes carençables chez lesquels il peut s'abaisser très bas mais il ne peut s'accroître indéfiniment. En effet, au-dessus du niveau qui correspond au taux normal,

il est pratiquement impossible de l'élever. Dans le cas où il dépasse ce taux, une grande partie de la vitamine est détruite dès qu'on approche de l'état de saturation et est excrétée dans les urines. Inversement, lorsque la vitamine diminue dans l'organisme, une vitaminisation tend à se produire. Cette économisation serait à la fois le résultat de l'oxydation de l'acide ascorbique et de la diminution de consommation de ce corps.

Par ces mécanismes serait assurée l'équilibration de l'acide ascorbique dans l'organisme. Et l'on peut dire, en définitive, que l'acide ascorbique tissulaire ne constitue pas, à proprement parler, de réserves. On s'est posé la question de savoir s'il pouvait du moins servir de réserve à titre secondaire. Giroud et Ratsimamanga disent qu'il est permis de penser que « toute la portion de vitamine en sus de celle que l'on retrouve chez les organismes survivants puisse correspondre pratiquement à une réserve. »

Chez les organismes qui synthétisent l'acide ascorbique et chez lesquels l'équilibre de cette substance est toujours assuré, les organes ont une charge constante et aucune de leurs fonctions ne peut être pertubée.

Au contraire, chez tous les organismes carençables, chez l'homme et l'enfant en particulier, les charges vitaminiques des organes peuvent varier et en particulier être déficientes, ce qui donne lieu à des symptômes plus ou moins graves. Il y a ainsi des états d'avitaminose et d'hypovitaminose dont les causes sont diverses : il peut y avoir absence ou insuffisance d'apport en vitamine C, (l'insuffisance étant plus fréquente que l'absence), ou bien déficience dans l'absorption. L'avitaminose ou l'hypovitaminose peuvent également être dues à des troubles dans l'utilisation de l'acide ascorbique ou encore à l'insuffisance de substances synergiques (telles que la vitamine P) qui assurent l'oxydation de la vitamine C.

La privation de vitamine C provoque chez l'homme l'apparition du scorbut, maladie bien connue à symptômes très caractéristiques et qui sont capables de rétrograder et même de disparaître lorsqu'on administre de l'acide ascorbique à la dose de 40 mgr. par jour.

L'état de vitaminisation de l'organisme est très intéressant à connaître et de nombreux auteurs ont cherché des méthodes de dosages de l'acide ascorbique, en particulier dans les urines et dans le sang. Dans *les urines*, l'estimation peut se faire d'après l'élimination journalière et il y a une relation très nette entre cette élimination et les manifestions du scorbutt. On a également utilisé la méthode dite « de charge « qui consiste à donner de grandes quantités de vitamine jusqu'à ce qu'une portion importante en soit éliminée. L'aci-

de ascorbique fourni est retenu et fixé tant que les tissus de l'organisme sont incomplètement pourvus en vitamine et, dans ces conditions, l'élimination urinaire est nulle ou insignifiante. Mais dès que les tissus ont acquis leur charge maxima, l'organisme est saturé et il élimine une grande proportion de l'acide oscorbique introduit en excès. C'est cet état de saturation qui correspondrait au « taux normal ».

Dans le sang, plusieurs méthodes de dosages ont été utilisées : les colorants (bleu de méthylène, dichlorophénol) donnent des chiffres peu précis ; la méthode spectrophotométrique présente peu d'intérêt, et le plus souvent on fait des dosages au dichlorophénol-indophénol dans le plasmo.

Pratiquement, on constate d'assez nombreuses hypovitaminoses marquées de fréquentes hypovitominoses légères et le plus souvent de simples déficiences. On s'est demandé s'il existait aussi, pratiquement, des hypervitaminoses C. Celles-ci ne semblent pas à craindre vu la rapidité de destruction et d'élimination de l'acide ascorbique. Cependant on a pu observer chez l'adulte, quelques troubles (manifestations dyspeptiques, excitation et insomnies), pouvant lui être attribués ; mais ce sont là des cas isolés.

DEUXIÈME PARTIE

Plan de nos recherches

Nous avons tout d'abord déterminé la DOSE TOXIQUE DE SALICYLATE POUR LE CŒUR, utilisant à cet effet la MÉTHODE DE PERFUSION chez le chien chloralosé. Cette méthode, dont nous donnerons plus loin le détail, consiste à déterminer chez le chien chloralosé la mort par arrêt du cœur en le perfusant avec une solution dont la rapidité de pénétration et la concentration sont calculés par quelques essais préliminaires de manière à ce que le phénomène recherché apparaisse dans un temps compris entre 20 et 30 minutes.

Cette méthode, qui est couramment employée pour les médicaments du type digitalique donne, appliquée au salicylate de soude, des résultats satisfaisants.

Nous avons d'abord établi un chiffre moyen pour 10 expériencee réalisées avec du *salicylate de soude pur* (1).

Ensuite, pour étudier l'influence de la vitamine B_1 sur la toxicité cardiaque du salicylate de soude, nous avons incorporé à la solution perfusée qui titre 10 % de salicylate, *de cette vitamine* dans la *proportion de* 1 *cgr.* % dans une première série de 10 expériences et *de* 5 *cgr* % dans une seconde serie de 10 expériences.

Nous avons suivi le même protocole pour étudier l'action de la *vitamine C.* incorporée dans la *proportion de* 1 *cgr.* % à la solution de salicylate, cette dernière titrant toujours 10 gr. % de salicylate.

---

(1) Le salicylate que nous avons utilisé et dont nous avons vérifié la pureté était sous forme de paillettes, variété qui n'est plus officinale depuis 1937. Il a été montré par ailleurs (J. DELPHAUT 1936) que la variété cristallisée, la seule reconnue par le Codex à l'heure actuelle, possède une toxicité plus forte (102 cgr. p. K.) et plus régulière. Nos recherches étant purement comparatives, cette différence ne présente pas une très grande importance.

— Pour déterminer l'influence de la vitamine C sur LA TOXICITÉ GÉNÉRALE DU CALICYLATE, nous avons utilisé LE COBAYE comme animal d'expérience. Le peu d'animaux que nous avions à notre disposition ne nous a pas permis d'utiliser la méthode de Trévau, la plus rationnelle, permettant l'établissement des courbes de toxicité. Aussi avons-nous utilisé le protocole suivant : par quelques expériences préliminaires, nous avons recherché quelle était la quantité de salicylate de soude en solution à 10 gr. % qui, injectée par voie intrapéritonéale à cet animal, provoquait sa mort dans un délai inférieur à 24 heures après l'injection. Une fois cette dose déterminée, nous avons réalisé de nouvelles expériences en incorporant à la solution de salicylate, de la vitamine C dans la proportion de 1 gr. de ce corps pour 100 gr. de la solution, ce qui nous a permis de voir l'influence de cette vitamine sur la toxicité générale du salicylate.

Nous avons opéré de la même façon sur des GRENOUILLES (de l'espèce Rana Agilis). Nous avons d'abord recherché la quantité de solution de salicylate de soude apte à provoquer la mort par injection dans les sacs lymphatiques dorsaux dans un délai inférieur à 24 heures après l'injection. Nous avons utilisé des solutions de salicylate de concentration en ce sel allant de 3 à 20 %.

Nous avons ensuite pratiqué les mêmes expériences en incorporant de la vitamine C dans la proportion de 1 gr. % respectivement dans chacune des solutions de salicylate de soude étudiées précédemment.

Nous exposerons plus loin le détail des résultats obtenus.

— Nous avons enfin recherché, dans un autre groupe d'expériences l'influence de la vitamine B_1 puis de l'acide ascorbique sur la FIXATION DU SALICYLATE DE SOUDE AU NIVEAU DU MYOCARDE.

Nous avons suivi pour cela la technique mise au point par R. Paris et utilisée par ce dernier et P. Jouffret. Elle consiste essentiellement à injecter par voie intraveineuse chez le chien une dose de 2 cc. p. K. de la solution injectable officinale de salicylate de soude (10 % de ce sel et 10 % de glucose). L'animal est sacrifié 2 heures après et l'on dose l'acide salicylique dans le sérum et dans le myocarde.

Le principe du dosage consiste à extraire l'acide salicylique par l'acide sulfurique dilué et l'éther puis à le doser colorimétriquement à l'aide de la réaction au perchlorure de fer, comparativement avec une solution étalon d'acide salicylique.

Comme dans les expériences de toxicité, nous avons utilisé d'abord le salicylate de soude pur, puis le salicylate de soude associé à des quantités croissantes de vitamines B_1 et C.

Nous avons réalisé les expériences suivantes :
Solution de salicylate de soude pur à 10 %, glucosé à 10 %

Même solution + 10 cgr % de vitamine B_1
» » + 5 cgr % de vitamine C
» » + 25 cgr % » » C
» » + 50 cgr % » » C
» » + 1 gr. % » » C
» » + 2 gr. % » » C

Injection d'une solution officinale de salicylate de soude (10 % de salicylate + 10 % de glucose) sur chiens « chargés » (1) en vitamine C.

(1) Les chiens chargés en vitamine C sont des chiens auxquels pendant 24 ou 48 heures, nous avons injecté, à intervalles réguliers, par voie sous-cutanée, une quantité d'acide ascorbique telle que l'ensemble des piqûres leur ait fourni une proportion de vitamine C suffisante pour que l'effet recherché se produise.

Dans un délai de 8 à 12 heures après l'injection, nous faisions à l'animal une dernière piqûre, mais cette fois de solution de salicylate à 10 %, glucosée à 10 % et bien entendu ne renfermant pas de vitamine C.

Comme dans toutes nos expériences de fixation, l'animal était sacrifié 2 heures après cette dernière piqûre et selon les mêmes protocoles, nous prélevions cœur, urines, sang pour y effectuer nos dosages.

Détail
des techniques expérimentales utilisées

Les expériences qui étayent notre travail sont de deux ordres : LES PERFUSIONS ET LES FIXATIONS.

NOUS AVONS, POUR LES PREMIÈRES, utilisé la technique mise au point par J. Delphaut, auquel nous empruntons la description de la méthode :

La toxicité du salicylate de soude est due principalement à son action nocive sur le cœur. Ceci nous a incité à appliquer, pour déterminer la dose mortelle de ce sel, la méthode d'Hatcher-Magnus, adaptée au chien par Tiffeneau-Lévy.

Cette technique utilisée surtout pour les poisons du cœur comme les digitaliques, consiste à provoquer par perfusion lente continue dans la veine fémorale du chien chloralosé eu soumis à la respiration artificielle, la mort de cet animal dans un laps de temps compris entre 25 et 35 minutes.

Nous avons apporté pour ces expériences, deux légères modifications à cette méthode : en premier lieu, nous avons diminué l'intervalle de temps que nous avons ramené à être compris entre 20 et 30 minutes. Ensuite, nous avons supprimé la respiration artificielle. Ceci a l'avantage, en augmentant la toxicité du salicylate, de diminuer la quantité du produit administré.

A la condition d'opérer strictement dans les limites de temps indiquées, on peut utiliser des chiens de poids très variables.

NOUS AVONS D'AUTRE PART SUIVI POUR LES FIXATIONS, la méthode mise au point et appliquée par R. Paris.

Voici le détail de cette technique que nous avons fidèlement suivie et dont nous empruntons la description à R. Paris.

Nous avons pratiqué une *injection intra-veineuse de*

0,20 *gr. de salicylate de soude par kilog d'animal en solution à* 10 %, *glucosée à* 10 %. Cette injection était faite lentement par la veine saphène préalablement mise à nue.

Deux heures après, l'animal était sacrifié par injection de 50 *cc. d'air dans la saphène.*

Immédiatement après la mort, nous avons prélevé :

1) du sang par ponction cardiaque,

2) de l'urine par ponction de la vessie,

3) le cœur.

Le sang, après coagulation, était *centrifugé* de manière à séparer *le sérum dont nous prenions exactement* 5 *cc.* que nous placions dans un Erlem-Meyer d'environ 50 cc.

La même quantité d'urines était placée dans un autre Erlen-Meyer.

Le cœur était soigneusement dégraissé et débarrassé des gros vaisseaux, les cavités cardiaques lavées pour éliminer toutes traces de sang. Puis toute la masse du myocarde était passée au hâchoir mécanique, de manière à obtenir une masse très divisée et très homogène dont nous prenions 5 *gr.* que nous placions aussi dans un Erlen-Meyer.

Nous avions ainsi 3 Erlen-Meyer contenant respectivement :

5 gr. de cœur.
5 cc. de sérum.
5 cc. d'urine.

A chacun d'eux nous ajoutions 10 *cc. d'acide sulfurique* à 20 %.

On laissait 24 *heures en contact*, flacons bouchés, en agitant plusieurs fois.

Nous ajoutions alors 20 *cc. exactement mesurés d'éther sulfurique*. Les Erlen-Meyer étaient alors soigneusement rebouchés et agités à plusieurs reprises. Pour le sérum, il est à recommander une agitation lente par mouvement doux de renversement. Après 24 *heures de contact* et une dernière agitation, on prélevait dans chaque Erlem-Meyer exactement 8 *cc. d'éther correspondant à* 2 *gr. d'organes.*

Les 8 cc. d'éther étaient placés chacun dans un petit bêcher d'environ 30 cc. contenant 5 cc. d'eau distillée.

Le tout était porté à l'*étuve électrique à porte ouverte chauffée à* 70° *environ*. Nous n'avons jamais observé de projections, la couche d'eau faisant office d'isolant protecteur contre une chauffe trop rapide ; et par ailleurs cette méthode a l'avantage de précipiter et de coaguler certaines impuretés, probablement des protéines qui, par évaporation spontanée de l'éther à l'air libre resteraient en solution dans l'eau.

L'éther évaporé, *on laisse refroidir*, puis on filtre sur filtre mouillé dans des ampoules à décantation. On lave 2 fois

avec 2,5 cc' d'eau distillée, le bêcher et le filtre et on obtient ainsi environ 10 cc. de filtrat.

On ajoute 5 cc. d'éther, on agite, on décante et on recueille l'éther dans un tube à essais gradué ; *on évapore au Bain-Marie tiède vers* 35°-40° en agitant légèrement le tube pour éviter les projections. On fait un nouvel épuisement avec encore 5 cc. d'éther que l'on reçoit dans le même tube gradué et l'on opère une deuxième évaporation. On opère de même une troisième fois quoique cela ne soit nécessaire que pour des urines très chargées en acide salicylique ; généralement dans nos premières expériences de contrôle, après le 2e épuisement, nous n'avons jamais trouvé de quantités dosables d'acide salicylique dans le liquide aqueux correspondant au cœur et au sérum.

L'acide salicylique déposé au fond du tube à essai gradué *est dissout dans un réactif ferrique glycériné.*

On préparait d'abord : (Perchlorure de fer 0,12 cc.
(Glycérine 5 cc.
(Eau distillée q. s. p. 250 cc.

Le réactif était divisé en 2 parties dont l'une était diluée au demi avec de l'eau distillée.

5 *cc. du réactif non dilué au demi étaient ajoutés à* 5 cc. *d'une solution aqueuse d'acide salicylique à* 0,02 *gr.* %.

On obtenait ainsi une coloration violette étalon correspondant à une solution contenant 10 *mgr d'acide salicylique pour cent.*

Chaque tube à essai gradué contenant l'acide salicylique de 2 gr. de cœur, sérum ou urine recevait une quantité de réactif dilué au demi de manière à obtenir sensiblement une coloration violette voisine de la teinte étalon.

Si (a) était le nombre de centimètres cubes de réactif versé (entier ou fractionnaire), (b) le rapport des concentrations des liquides à doser à celle de la teinte étalon, indiqué par le colorimètre, la concentration en acide salicylique pour 100 gr. de cœur, sérum, urine, était :

$$C = \frac{10 \times a \times b}{2} \text{ mgr } \%$$

soit : $C = 5\ a.\ b.$ mgr %

Remarquons qu'une quantité minimum de 2,5 cc. est nécessaire pour avoir suffisamment de liquide dans le godet du colorimètre et permettre le dosage.

Pour le cas de très faibles quantités d'acide salicylique, il est toujours possible de diluer convenablement la solution étalon avec de l'eau distillée, ou directement la teinte étalon avec le réactif au demi.

La solution étalon que nous avons préparée donne, avec le réactif non dilué, une coloration violette d'intensité suffisante et suffisamment faible pour permettre une bonne observation.

Enfin, les échantillons de perchlorure de fer officinal pouvant légèrement varier de l'un à l'autre, il est toujours prudent de faire une expérience pour connaître la latitude de dosage du réactif.

On comparera la teinte étalon avec la coloration obtenue à l'aide du réactif dilué au demi saturé d'acide salicylique. Cette dernière devra être facilement reconnue « plus foncée » au simple examen visuel à travers le tube gradué.

De cette manière, on peut obtenir un réactif peu coloré par lui-même, donc ne faussant pas la coloration violette, donnant une teinte très pure et très stable, et suffisamment concentré pour utiliser tout l'acide salicylique provenant de l'extraction.

Les résultats expérimentaux

I

SALICYLATE ET VITAMINE B_1

A. — *EXPERIENCES DE TOXICITÉ : PERFUSIONS.*

Nous avons d'abord, dans un premier groupe de 10 expériences établi la toxicité sur le cœur d'une SOLUTION A 10 % DE SALICYLATE EN PAILLETTES PUR.

La technique a été exposée en détail dans le chapitre précédent.

Nous avons noté dans ces expériences l'apparition de troubles cardiaques : ce sont des extra-systoles, des irrégularités ou des pauses du cœur qui s'inscrive sur l'enregistreur de la pression artérielle. A l'apparition de ce phénomène, nous notons la quantité de solution injectée par kilog. jusqu'à ce moment et nous calculons la quantité du produit actif qui a déterminé ces troubles.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Expérience N° 1 — Chien de 7 kgs.
Troubles cardiaques à 80 cgr. par k.
Mort en 30 minutes = 124 cgr. par k.

Expérience N° 2 — Chien de 4,5 kgs.
Troubles cardiaques à 75 cgr. par k.
Mort en 25 minutes = 125 cgr. par k.

Expérience N° 3 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 76 cgr. par k.
Mort en 22 minutes = 100 cgr. par k.

Expérience N° 4 — Chien de 4,5 kgs.
Pas de troubles cardiaques.
Mort en 22 minutes = 100 cgr. par k.

Expérience N° 5 — Chien de 6 kgs.
Troubles cardiaques à 70 cgr. par k.
Mort en 28 minutes = 126 cgr. par k.

Expérience N° 6 — Chien de 6 kgs.
Pas de troubles cardiaques.
Mort en 26 minutes = 108 cgr. par k.

Expérience N° 7 — Chien de 6 kgs.
Pas de troubles cardiaques.
Mort en 30 minutes = 125 cgr. par k.

Expérience N° 8 — Chien de 2 kgs.
Troubles cardiaques à 69 cgr. par k.
Mort en 22 minutes = 100 cgr. par k.

Expérience N° 9 — Chien de 5 kgs.
Troubles cardiaques à 82 cgr. par k.
Mort en 25 minutes = 112 cgr. par k.

Expérience N° 10 — Chien de 7 kgs.
Pas de troubles cardiaques.
Mort en 22 minutes = 110 cgr. par k.

Nous avons réuni en un tableau général, les résultats de ces 10 premières expériences, en établissant la moyenne des chiffres obtenus pour les quantités de salicylate entraînant l'apparition des troubles cardiaques d'une part et celles entraînant la mort d'autre part.

TABLEAU N° I.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs.	Apparition des troubles cardiaques.	Mort.
1	7	80 cgr p.K.	124 cgr p.K.
2	4,5	75 " "	125 " "
3	6,5	76 " "	100 " "
4	4,5	— —	100 " "
5	6	70 " "	126 " "
8	6	— —	108 " "
7	6	— —	125 " "
8	7	69 " "	100 " "
9	5	82 " "	112 " "
10	7	— —	110 " "
MOYENNES		75,3 cgr p.K.	113 cgr p.K.

SERIE N° I — Expériences sur le chien : perfusion d'une solution de salicylate de soude en paillettes pur à 10 %.

Dans un second groupe de 6 expériences nous avons, toujours suivant le même protocole, effectué des perfusions mais cette fois avec une solution de SALICYLATE A 10 % à laquelle nous avions incorporé de la VITAMINE B_1 DANS LA PROPORTION DE 1 cgr. %.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Expérience N° 1 — Chien de 7,5 kgs.
Troubles cardiaques à 45 cgr. par k.
Mort en 22 minutes = 88 cgr. par k.

Expérience N° 2 — Chien de 5 kgs.
Troubles cardiaques à 36 cgr. par k.
Mort en 21 minutes = 94 cgr. par k.

Expérience N° 3 — Chien de 5 kgs.
Troubles cardiaques à 41 cgr. par k.
Mort en 20 minutes = 77,5 cgr. par k.

Expérience N° 4 — Chien de 8 kgs.
Convulsions.
Mort en 25 minutes = 111 cgr. par k.

Expérience N° 5 — Chien de 5 kgs.
Convulsions — Troubles cardiaques à 83,6 cgr. par k.
Mort en 26 minutes = 109 cgr. par k.

Expérience N° 6 — Chien de 7,5 kgs.
Extra-systoles pour 80 cgr. par k.
Mort en 27 minutes = 108 cgr. par k.

Comme pour la série précédente, nous avons groupé ces résultats en un tableau (Tableau N° II).

TABLEAU N° II

Numéros des expériences	Poids des animaux en Kgs.	Apparition des troubles cardiaques.	Mort.
1	7,5	45 cgr p.k.	88 cgr p.k.
2	5.	36 " "	94 " "
3	5.	41 " "	77,5 " "
4	8.	— —	111 " "
5	5	83,6 " "	109 " "
6	7,5	80. " "	108 " "
MOYENNES		57,1 cgr p.k.	97,9 cgr p.k.

SERIE N° II — Expériences sur le chien : perfusion d'une solution de salicylate de soude à 10 % renfermant 1 cgr. % de vitamine B_1.

A la suite de ces expériences, nous pouvons déjà conclure à une augmentation marquée de la toxicité par rapport à la solution de salicylate pur donc la vitamine B_1 semblerait augmenter la toxicité du salicylate sur le cœur.

Nous avons fait une autre série d'expériences, toujours avec la VITAMINE B_1, mais incorporée cette fois à la solution de SALICYLATE DE SOUDE à 10 % dans la proportion de 5 cgr. %.

Voici nos résultats :

Expérience N° 1 — Chien de 8 kgs.
Pas de troubles cardiaques.
Mort en 23 minutes = 112 cgr. par k.

Expérience N° 2 — Chien de 9 kgs.
Troubles cardiaques à 59 cgr. par k.
Mort en 24 minutes = 100 cgr. par k.

Expérience N° 3 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 73 cgr. par k.
Mort en 22 minutes = 104 cgr. par k.

Expérience N° 4 — Chien de 7 kgs.
Pas de troubles cardiaques.
Mort en 23 minutes = 103 cgr. par k.

Expérience N° 5 — Chien de 8 kgs.
Troubles cardiaques à 80 cgr. par k.
Mort en 24 minutes = 100 cgr. par k.

Expérience N° 6 — Chien de 7,5 kgs.
Troubles cardiaques à 72 cgr. par k.
Mort en 22 minutes = 103 cgr. par k.

Voici le tableau-résumé relatif à ces expériences (Tableau N° III) :

TABLEAU N° III.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs.	Apparition des troubles cardiaques.	Mort.
1	8	— —	112 cgr p. K.
2	9	59 cgr p. K.	100 " "
3	6,5	73 " "	104 " "
4	7	— —	103 " "
5	8	80 " "	100 " "
6	7,5	72 " "	103 " "
MOYENNES		72,2 cgr p. K.	103,66 " "

SERIE N° III. — Expériences sur le chien : perfusion d'une solution à 10 % de salicylate renfermant 5 cgr. % de vitamine B_1.

Nous voyons qu'à la dose de 5 cgr. % la vitamine B_1 incorporée à la solution de salicylate à 10 % augmente la toxicité de cette dernière, un peu moins cependant qu'elle ne le faisait à la dose de 1 cgr. %.

B. — *EXPERIENCES DE FIXATION DU SALICYLATE AU NIVEAU DU MYOCARDE.*

Comme pour les expériences de perfusion, nous avons d'abord étudié le salicylate pur, puis l'association salicylate-Vitamine B_1.

Dans un premier groupe de 6 expériences, nous avons injecté dans la veine saphène du chien une solution de SALICYLATE DE SOUDE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 %, à la dose de 2 cc. p. k. (soit 0,20 gr. de salicylate p. k.)

Suivant le protocole que nous avons donné en détail dans un précédent chapitre, nous avons sacrifié l'animal 2 heures après l'injection et prélevé immédiatement le cœur, le sang et l'urine afin de pratiquer les dosages comme il a été décrit.

Voici les résultats que nous avons obtenus.

Expérience N° 1 — Chien de 7 kgs.
Sang — —
Cœur 8 mgr % d'acide salicylique
Urines 90 mgr % » »

Expérience N° 2 — Chien de 4,5 kgs.
Cœur 8,2 mgr % d'acide salicylique
Sang 90 » » »
Urines 50 » » »

Expérience N° 3 — Chien de 6 kgs.
Cœur 8,2 mgr % d'acide salicylique
Sang 50 » » »
Urines 45 » » »

Expérience N° 4 — Chien de 5 kgs.
Cœur 9 mgr % d'acide salicylique
Sang 63 » » »
Urines 90 » » »

Expérience N° 5 — Chien de 5 kgs.
Cœur 11 mgr % d'acide salicylique
Sang 46,7 » » »
Urines — » » »

Expérience N° 6 — Chien de 7 kgs.
Cœur 9,99 mgr % d'acide salicylique
Sang 73,6 » » »
Urines — » » »

Nous n'avons jamais constaté de vomissements alors que R. Paris note dans sa thèse, pour une solution absolument identique (1) des vomissements dans presque toutes les expériences réalisées.

Comme pour les perfusions, nous avons réuni en un tableau général les résultats de ces 6 premières expériences en établissant pour chaque catégorie de dosages la moyenne des chiffres obtenus.

TABLEAU N° IV.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgr.	Quantité d'acide salicylique, exprimés en mgrs. pour 100 gr. de :		
		Cœur	Sérum	Urines
1	7	8	—	90
2	4,5	8,20	90	50
3	6	8,20	50	45
4	5	9	63	90
5	5	11	45,7	—
6	7	9,29	73,6	—
MOYENNES		8,96	64,4	68,7

SERIE N° IV. — Expériences sur le chien : injection intra-veineuse de 0,20 gr. par k. de salicylate de soude en solution à 10 % glucosée à 10 %.

Nous constatons que les chiffres obtenus dans cette série d'expériences sont sensiblement les mêmes que ceux donnés par R. Paris pour une solution identique, aux erreurs d'expériences près.

De la même manière que précédemment, nous avons injecté à une série de 6 chiens une SOLUTION DE SALICYLATE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 % mais à laquelle nous avons incorporé cette fois 10 CGR. % DE VITAMINE B_1.

---

(1) Nous devons signaler ici que la solution utilisée par R. PARIS était bien identique quant à la concentration en salicylate de soude et à son association avec le glucose mais le salicylate utilisé était un salicylate purissime alors que nous avons dû nous contenter du salicylate en paillettes pur ; ceci pourrait peut-être expliquer les vomissements apparus dans les expériences réalisées par R. PARIS et que nous n'avons pas notées dans les nôtres.

Les résultats sont les suivants :

Expérience N° 1 — Chien de 9 kgs.
Cœur 8,94 mgr % d'acide salicylique
Sang 50,43 » » »

Expérience N° 2 — Chien de 10 kgs.
Cœur 8,99 mgr % d'acide salicylique
Sang 51 » » »

Expérience N° 3 — Chien de 6 kgs.
Cœur 9,2 mgr % d'acide salicylique
Sang 63 » » »

Expérience N° 4 — Chien de 8 kgs
Cœur 9 mgr % d'acide salicylique
Sang 59 » » »

Expérience N° 5 — Chien de 7,8 kgs.
Cœur 8,98 mgr % d'acide salicylique
Sang 61 » » »

Expérience N° 6 — Chien de 8,5 kgs.
Cœur 9 mgr % d'acide salicylique
Sang 57 » » »

Cette association médicamenteuse ne donne pas lieu non plus à des vomissements.

TABLEAU N° V

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs	Quantité d'acide salicylique, exprimée en mgr, fixée dans 100 gr. de :	
		Cœur	Sérum
1	9	8,94	50,43
2	10	8,99	51
3	6	9,20	63
4	8	9	59
5	7,8	8,98	61
6	8,5	9	57
MOYENNES		9,02	56,9

SERIE N° V. — Expériences sur le chien : injection intraveineuse de 0,20 gr. par kg de salicylate de soude, en solution à 10 %, glucosée à 10 %, renfermant 10 cgr. % de vitamine B_1.

La vitamine B_1 dans cette proportion ne semble pas apporter de grands changements à la fixation du salicylate au niveau du myocarde.

II

SALICYLATE ET VITAMINE C.

Comme pour la vitamine B_1, nous avons étudié l'association médicamenteuse salicylate-vitamine C.

Nous avons réalisé des expériences de toxicité de deux ordres : toxicité du salicylate pour le cœur (perfusion) et toxicité générale d'une part, d'autre part des expériences de fixation au niveau du myocarde.

A. — *EXPERIENCES DE TOXICITE.*

(1) Perfusions :

Les expériences de perfusions avec une solution de salicylate pur ayant déjà été réalisées à propos de la vitamine B_1 (Cfer Tab. N° 1), nous avons immédiatement entrepris l'étude de l'association salicylate-vitamine C.

Nous avons donc sur le chien chloralosé, pratiqué la perfusion d'une solution de salicylate a 10 %, à laquelle nous avons incorporé 1 gr. % d'acide ascorbique.

Voici les résultats :

Expérience N° 1 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 71 cgr p. k.
Mort en 23 minutes = 91 cgr p. k.

Expérience N° 2 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 83 cgr p. k.
Troubles cardiaques à 83 cgr p. k.
Mort en 30 minutes = 124 cgr p. k.

Expérience N° 3 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 95,7 cgr p. k.
Le chien est convulsivé.
Mort en 27 minutes = 108 cgr p. k.

Expérience N° 4 — Chien de 7 kgs.
Extra-systoles au début.
Mort en 24 minutes = 98 cgr p. k.

Expérience N° 5 — Chien de 7 kgs.
Troubles cardiaques à 51,4 cgr p. k.
Mort en 30 minutes = 128 cgr p. k.

Expérience N° 6 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 95,5 cgr p. k.
Mort en 29 minutes = 121 cgr p. k

Expérience N° 7 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 52 cgr p. k.
Mort en 26 minutes = 119 cgr p. k.

Expérience N° 8 — Chien de 6 kgs.
Troubles cardiaques à 103 cgr p. k.
Mort en 29 minutes = 135 cgr p. k.

Expérience N° 9 — Chien de 6 gs.
Troubles cardiaques à 106 cgr p. k.
Mort en 22 minutes = 110 cgr p. k.

Expérience N° 10 — Chien de 6,5 kgs.
Troubles cardiaques à 90 cgr p. k.
Mort en 27 minutes = 130 cgr p. k.

Voici le tableau récapitulatif de cette série d'expériences

TABLEAU N° VI.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs.	Apparition des troubles cardiaques	Mort.
1	6,5	71,4 cgr p.k	91 cgr p.k
2	6,5	83 " "	124 " "
3	6,5	95,7 " "	108 " "
4	7	— —	98 " "
5	7	51,4 " "	128 " "
6	6,5	95,5 " "	121 " "
7	6,5	52 " "	119 " "
8	6	103 " "	135 " "
9	6	106 " "	110 " "
10	6,5	90 " "	130 " "
MOYENNES		83 cgr p.k.	116,4 cgr p.k.

SERIE N° VI. — Expériences sur le chien : perfusion d'une solution à 10 % de salicylate pur renfermant 1 % d'acide ascorbique.

Par rapport à la solution de salicylate pur, il ressort de nos expériences que l'introduction de vitamine C à la dose de 1 gr. % diminue très légèrement la toxicité cardiaque du salicylate de soude.

---

(2) Toxicité générale.

Expériences sur le cobaye.

Nous avons recherché, dans ces expériences, d'une part la dose toxique de salicylate de soude pur chez le cobaye et d'autre part, cette même dose en utilisant une solution de salicylate 10 % à laquelle nous avions incorporé pour une

série 1 gr. % de vitamine C. et pour l'autre série 5 gr. % de cette vitamine.

Les solutions utilisées ne contenaient pas de glucose.

Quelques essais préliminaires nous ont montré que la toxicité du salicylate de soude pur était située entre 0,50 gr. et 1 gr. p. k. (voie intrapéritonéale). En effet, au-dessus de ces doses (1,50 gr.-1,25 gr.) les animaux meurent rapidement après l'injection et aucun ne survit, alors que pour 0,50 gr. p. k. aucun ne paraît touché. Pour 1 gr de salicylate p. k. nous avons obtenu 4 morts sur 6 cobayes et pour 0,75 gr., 3 morts sur 6 animaux, ceci dans un délai inférieur de 24 h. après l'injection.

Avec 1 gr. % de vitamine C. et à la dose de 1 gr. de salicylate par k. nous avons obtenu 5 morts sur 6 cobayes et lorsque la proportion de vitamine C. atteignait 5 %, nous avons constaté que 4 animaux sur 6 mourraient dans un temps inférieur à 24 heures.

Nous conclurons de ces expériences sommaires que la vitamine C. ne paraît pas avoir une grande influence sur la toxicité. par voie intrapéritonéale du salicylate chez le cobaye.

Voici quelques protocoles expérimentaux :

Solution de salicylate pur à 10 % :

1,50 gr. p. k.	Cobaye 390 gr.	Morts 1 h. 30 après l'injection
	» 380 gr	
1,25 gr. p. k.	Cobaye 450 gr.	Morts 2 h. après l'injection
	» 360 gr.	
	» 500 gr.	Mort 6 heures après
1 gr. p. k.	Cobaye 440 gr.	Mort 6 heures après
	» 410 gr.	Mort 6 heures après
	» 500 gr.	Pas mort
	» 430 gr.	Mort 6 heures après
	» 420 gr.	Pas mort
	» 390 gr.	Mort 6 heures après
0,75 gr. p. k.	Cobaye 540 gr.	Mort 6 heures après
	» 500 gr.	
	» 540 gr.	Pas morts
	» 520 gr.	
	» 600 gr.	Mort 6 heures après
	» 620 gr.	Mort 6 heures après
0,50 gr. p. k.	Cobaye 480 gr.	
	» 550 gr.	Pas morts
	» 610 gr.	

Solution de salicylate de soude à 10 % + 1 % de vitamine C

Salicylate en solution à 10 % + 1 % de vitamine C.

1 gr. p. k.	Cobaye	550 gr.	
	»	700 gr.	
	»	600 gr.	Tous morts 6 heures après
	»	500 gr.	
	»	620 gr.	
	»	650 gr.	Pas mort

Salicylate en solution à 10 % + 5 % de vitamine C

1 gr. p. k.	Cobaye	600 gr.	
	»	500 gr.	Tous morts 6 heures après
		400 gr.	
	»	380 gr.	Pas mort
	»	350 gr.	Pas mort.
	»	550 gr.	Mort 8 heures après

Signalons qu'au cours de ces expériences, nous n'avons observé aucune excitation chez les animaux, mais au contraire une paralysie progressive.

Expériences sur les grenouilles.

Ayant eu l'occasion de disposer d'un certain nombre de grenouilles vertes (de l'espèce Rana Agilis) de poids moyen de 4 à 5 gr. nous avons sur ces animaux, effectué les mêmes essais que sur les cobayes.

Nous avons, par quelques expériences préliminaires, cherché la toxicité du salicylate de soude pur par injection dans les cas lymphatiques dorsaux.

En utilisant pour une première série de grenouilles une solution de salicylate de soude à 20 % dont nous injections respectivement 2/10 de cc. et 3/10 de cc. sur 2 lots d'animaux, nous avons obtenu une mortalité de 100 cc. dans les premières heures suivant l'injection.

Nous avons, dans chaque série d'expériences, gardé dans un bocal une grenouille qui nous servait de témoin.

La même solution de *salicylate à* 20 %, additionnée de *vitamine C* dans la proportion de 1 % de ce corps, donnait les mêmes résultats dans un laps de temps aussi rapide.

Nous avons alors employé une solution de *salicylate pur* à 5 % : pratiquée sur 6 grenouilles, l'injection de cette solution a provoqué la mort de 4 animaux.

L'adjonction de 1 *gr. % de vitamine C.* à une solution de *salicylate de même concentration* que la précédente ne changeait en rien la mortalité et sur une nouvelle série de

6 grenouilles auxquelles nous avions injecté ce mélange, 2 seulement ont survécu.

De la même façon, une solution de *salicylate pur à 4 %* a causé la mort, moins de 24 heures après l'injection, de 3 grenouilles sur 8. Avec la *même solution additionnée de 1 % de vitamine C*, 4 grenouilles sur 8 demeuraient vivantes.

Nous avons préparé une solution renfermant 3,5 *gr. % de salicylate de soude ;* injectée à la dose de 2/10 cc. par grenouille sur un lot de 7 animaux, nous avons constaté 7 morts.

Avec la même solution additionnée *d'acide ascorbique* dans la proportion de 1 gr. %, 2 animaux sur 7 sont demeurés vivants.

B. — *EXPERIENCES DE FIXATION DU SALICYLATE AU NIVEAU DU MYOCARDE.*

La fixation d'une solution de SALICYLATE DE SOUDE PUR au niveau du myocarde ayant déjà été étudiée (Cfer Tab. N° IV) au cours de nos expériences avec la vitamine B_1, nous avons immédiatement entrepris ici l'étude du mélange salicylate-vitamine C.

Nous avons réalisé diverses séries d'expériences avec des solutions de salicylate à 10 % auxquelles nous avions incorporé des quantités croissantes d'acide ascorbique (5,25, 50 cgr. % de ce corps, puis 1 gr. et 2 gr. %). Nous avons réalisé également une série d'expériences sur des chiens « chargés » en vitamine C, c'est-à-dire ayant reçu pendant les 18 ou 24 heures qui doivent précéder l'injection de salicylate pur, des injections régulières sous-cutanées de vitamine C. Ces chiens étaient sacrifiés 2 heures après l'injection d'une solution de salicylate à 10 % glucosée à 10 %.

Voici le détail de ces diverses expériences :

Sur un premier groupe de 6 chiens, nous avons pratiqué l'injection d'une SOLUTION DE SALICYLATE DE SOUDE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 %, à laquelle nous avions incorporé 5 CGR % D'ACIDE ASCORBIQUE.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Expérience N° 1 — Chien de 7 kgs.
Cœur 9 mgr % d'acide salicylique
Sang 60 » » »

Expérience N° 2 — Chien de 10 kgs.
Cœur 9,5 mgr % d'acide salicylique
Sang 67 » » »
Urines 90 » » »

Expérience N° 3 — Chien de 4,5 kgs.
Cœur 9,5 mgr % d'acide salicylique
Sang 45 » » »
Urines 92 » » »

Expérience N° 4 — Chien de 5 kgs.
Cœur 9,5 mgr % d'acide salicylique
Sang 52 » » »
Urines 85 » » »

Expérience N° 5 — Chien de 6,5 kgs.
Cœur 10,5 mgr % d'acide salicylique
Sang —
Urines 90,05 » » »

Expérience N° 6 — Chien de 7 kgs.
Cœur 9,7 mgr % d'acide salictlique
Sang 66,4 » » »

Dans cette série, encore, nous n'avons observé aucun vomissement.

Les résultats de ces expériences sont groupés dans le tableau suivant :

TABLEAU N° VII.

Numéros des expériences	Poids des animaux au kgs	Quantité d'acide salicylique, exprimée en mgrs, fixée dans 100 gr de : Cœur	Sérum	Urines
1	7	9	60	—
2	10	9,5	67	90
3	4,5	10	45	92
4	5	9,5	52	85
5	6,5	10,5	—	90,5
6	7	9,7	66,4	—
MOYENNES		9,7	58	89,3

SÉRIE N° VII. — Expériences sur le chien : injection intraveineuse de 0,20 gr. par k. de salicylate de soude en solution à 10 %, glucosée à 10 % et renfermant 5 cgr % d acide ascorbique.

Avec ce pourcentage d'acide ascorbique, la fixation de salicylate paraît à peine augmentée. Il est vrai que nous avons dans cette série, utilisé les ampoules de vitamine C. du commerce, solution certainement beaucoup moins active que celle que nous avons par la suite préparée extemporanément avec de la vitamine C. cristallisée. La pénurie d'animaux ne nous a pas permis ainsi que nous l'aurions désiré, de refaire cette série d'expériences avec l'acide ascorbique cristallisé, mais par la suite nous n'avons employé que celui-là.

Dans un autre groupe d'expériences, nous avons incorporé à la solution de SALICYLATE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 % DE L'ACIDE ASCORBIQUE dans la proportion DE 25 CGR % et nous avons obtenu les résultats suivants :

Expérience N° 1 — Chien de 8 kgs.
Cœur 14,35 mgr % d'acide salicylique
Urines 26,40 » » »

Expérience N° 2 — Chien de 7,50 kgs.
Cœur 14,9 mgr % d'acide salicylique
Sang 29,25 » » »
Urines 27,20 » » »

Expérience N° 3 — Chien de 8,5 kgs.
Cœur 16 mgr % d'acide salicylique
Sang 32,4 » » »
Urines 28,3 » » »

Expérience N° 4 — Chien de 9 kgs.
Cœur 18,2 mgr % d'acide salicylique
Sang 46,9 » » »
Urines 63 » » »

Expérience N° 5 — Chien de 8,5 kgs.
Cœur 16,3 mgr % d'acide salicylique
Sang 34,3 » » »
Urines 56 » » »

Expérience N° 6 — Chien de 9 kgs.
Cœur 15,88 mgr % d'acide salicylique
Sang 37 » » »
Urines 40 » » »

TABLEAU N° VIII.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs.	Quantité d'acide salicylique, exprimée en mgrs, fixée dans 100 gr. de : Cœur	Sérum	Urine
1	8	14,35	28,30	26,40
2	7,5	14,90	29,25	27,20
3	8,5	16	32,40	28,30
4	9.	18,20	46,90	63
5	8,5	16,30	34,30	56
6	9.	15,88	37.	40
MOYENNES		15,89	37,50	40,1

SERIE N° VIII. — Expériences sur le chien : injection intraveineuse de 0,20 gr. p. k. de salicylate de soude en solution à 10 %, glucosée à 10 % renfermant 0,25 gr. de vitamine C.

L'augmentation de fixation commence dans cette série à apparaître nettement.

Nous avons fait 6 nouvelles expériences avec une solution DE SALICYLATE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 %, mais renfermant cette fois 50 CGR % D'ACIDE ASCORBIQUE.

Voici les résultats :

Expérience N° 1 — Chien de 7,800 kgs.
Cœur 19,3 mgr % d'acide salicylique
Sang 54,5 » » »

Expérience N° 2 — Chien de 9 kgs.
Cœur 20,5 mgr % d'acide salicylique
Sang 48,2 » » »
Urines 36 » » »

Expérience N° 3 — Chien de 8,5 kgs.
Cœur 20,2 mgr % d'acide salicylique
Sang 67,6 » » »

Expérience N° 4 — Chien de 8 kgs.
Cœur 20,5 mgr % d'acide salicylique
Sang — » » »
Urines 62 » » »

Expérience N° 5 — Chien de 7,5 kgs.
Cœur 18,9 mgr % d'acide salicylique
Sang 63,1 » » »
Urines 58,2 » » »

Expérience N° 6 — Chien de 8 kgs.
Cœur 19,9 mgr % d'acide salicylique
Sang 58,2 » » »
Urines 52 » » »

TABLEAU N° II.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs.	Quantité d'acide salicylique, exprimée en mgrs, fixée dans 100 grs de : Cœur	Sérum	Urines.
1	7,8	19,3	54,5	—
2	9	20,5	48,2	36
3	8,5	20,2	67,6	—
4	8	20,5	63,1	62
5	7,5	18,9	—	58,2
6	8	19,9	58,2	52
MOYENNES		19,38	58,85	52,1

SERIE N° IX. — Expériences sur le chien. Injection intraveineuse de 0,20 gr. de salicylate de soude en solution à 10 %, glucosée à 10 % renfermant 0,50 grs % d'acide ascorbique.

Ces expériences confirment l'accroissement de fixation au fur et à mesure que les quantités de vitamine C. introduites dans la solution officinale de salicylate augmentent.

Sur un nouveau groupe de 6 chiens, nous avons pratiqué 1 injection intraveineuse d'une SOLUTION SALICYLATE DE SOUDE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 % et renfermant 1 *gr.* % D'ACIDE ASCORBIQUE.

Voici les résultats :

Expérience N° 1 — Chien 7,5 kgs.
Cœur 29 mgr % d'acide salicylique
Sang 75 » » »

Expérience N° 2 — Chien 6,5 kgs.
Cœur 35 mgr % d'acide salicylique
Sang 86 » » »

Expérience N° 3 — Chien 6 kgs.
Cœur 30 mgr % d'acide salicylique
Sang 78 » » »

Expérience N° 4 — Chien 6,5 kgs.
Cœur 31 mgr % d'acide salicylique
Sang 83 » » »

Expérience N° 5 — Chien 5 kgs.
Cœur 27 mgr % d'acide salicylique
Sang 81 » » »

Expérience N° 6 — Chien 6 kgs.
Cœur 27,1 mgr % d'acide salicylique
Sang 81 » » »

Nous n'avons pas observé de vomissements.

Nous avons réuni ces résultats dans le tableau suivant :

TABLEAU N° X.

Numéros des expériences	Poids des animaux en kgs	Quantité d'acide salicylique exprimée en mgrs, fixée dans 100 gr. de : Cœur	Sérum
1	7,5	29	75
2	6,5	35	86
3	6	30	78
4	6,5	31	80
5	5	27	81
6	6	27,1	83,1
MOYENNES		29,85	81

SERIE N° X. — Expériences sur le chien : injection intraveineuse de 0,20 gr. p. k. de salicylate de soude en solution à 10 %, glucosée à 10 % et renfermant 1 gr. % d'acide ascorbique.

Dans cette série, l'augmentation de fixation par rapport à la solution de salicylate pur apparait vraiment très grande . les calculs nous montrent qu'elle est de 233 %.

Nous avons réalisé 6 nouvelles expériences à l'aide d'une SOLUTION DE SALICYLATE A 10 %, GLUCOSÉE A 10 %, à laquelle nous avions incorporé 2 GRS % D'ACIDE ASCORBIQUE.

Les résultats sont les suivants :

Expérience N° 1 — Chien 10 kgs.
Cœur 26,88 mgr. % d'acide salicylique
Sang 47,65 » » »

Expérience N° 2 — Chien 5,5 kgs.
Cœur 29,8 mgr % d'acide salicylique
Sang 93,2 » » »

Expérience N° 3 — Chien 9 kgs.
Cœur 9,5 mgr % d'acide salicylique
Sang 64 » » »

Expérience N° 4 — Chien 10 kgs.
Cœur 28,3 mgr % d'acide salicylique
Sang 46,8 » » »

Expérience N° 5 — Chien 9 kgs.
Cœur 22,7 mgr % d'acide salicylique
Sang 47,1 » » »

Expérience N° 6 — Chien 9,5 kgs.
Cœur 23,57 mgr % d'acide salicylique
Sang 66,98 » » »

Dans cette série encore, nous n'avons pas observé de vomissements.

Voici le tableau récapitulatif de ce groupe.

TABLEAU N° XI.

Numéro des expériences	Poids des animaux en kgs.	Quantité d'acide salicylique exprimée en mgrs, fixée dans 100 gr de	
		Cœur	Sérum.
1	10	26,88	47.65
2	5,5	29,80	93.20
3	9	9,50	64
4	10	28,30	46,80
5	9	22,70	47.10
6	9,5	23,57	66,98
MOYENNES		23,46	60,95

SERIE N° XI. — Expériences sur le chien : injection intraveineuse de 0,20 gr. p. k. de salicylate de soude en solution à 10 %, glucosée à 10 % et renfermant 2 gr. % d'acide ascorbique.

Contrairement à ce que l'on pouvait attendre la quan-

tité de 2 gr. % de vitamine C. introduite dans la solution officinale de salicylate n'augmente plus la fixation. Au contraire, le taux d'augmentation redescend à 162 % alors qu'il était de 233 % avec un gramme pour cent de vitamine C.

Dans un dernier groupe d'expériences, nous avons pratiqué sur 6 CHIENS PRÉALABLEMENT « CHARGÉS » (1) EN VITAMINE C, l'injection intraveineuse d'une SOLUTION DE SALICYLATE PUR A 10 %, GLUCOSÉE A 10 %, à la dose de 2 cc. L'animal était sacrifié 2 heures après cette injection.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Expérience N° 1 — Chien de 10 kgs.
ayant reçu le premier jour une piqûre de 1 cc. p. k. d'une solution d'acide ascorbique à 1 % et une piqûre de 2 cc. p. k. de cette même solution. Le lendemain, l'animal recevait les mêmes quantités de solution. Il était sacrifié le matin du troisième jour.
Les dosages ont donné les résultats suivants :

Cœur	8,9	mgr %	d'acide salicylique
Sang	57,3	»	»

Expérience N° 2 — Chien de 5,5 kgs.
ayant reçu 5 piqûres de 2 cc. chacune p. k. d'une solution de vitamine C. à 1 gr. % pendant les 54 heures précédant l'injection de salicylate.

Cœur	7	mgr %	d'acide salicylique
Sang	25	»	»

Expérience N° 3 — Chien de 10 kgs.
comme le précédent.

Cœur	8,10	mgr %	d'acide salicylique
Sang	70,2	»	»

Expérience N° 4 — Chien de 9 kgs.
comme le N° 2

Cœur	9,8	mgr %	d'acide salicylique
Sang	43	»	»

Expérience N° 5 — Chien de 6,5 kgs.
ayant reçu seulement 4 piqûres de 2 cc. p. k. de la solution de vitamine dans les 48 heures précédant l'injection de salicylate.

Cœur	7,45	mgr %	d'acide salicylique
Sang	45,5	»	»

---

(1) Chiens chargés cfer, page 49.

Expérience N° 6 — Chien de 9 kgs.
comme le précédent.
Cœur 7,72 mgr % d'acide salicylique
Sang 39,30 » » »
Aucun vomissement n'a été constaté au cours de cette série d'expériences.

Voici le tableau récapitulatif :

TABLEAU N° XII

Numéro des expériences	Poids des animaux en Kgs.	Quantité d'acide salicylique exprimée en mgrs, fixée dans 100 gr de : Cœur	Sérum
1	10	8,30	37,30
2	5,5	7	25
3	10	8,10	40,20
4	9	9,80	43
5	6,5	7,85	45,80
6	9	7,42	39,30
MOYENNES		8,16	46,70

SERIE N° XII. — Expériences sur le chien : injection intraveineuse de 0,20 gr. de salicylate de soude en solution à 10 %, glucosée à 10 % sur des chiens « chargés » en vitamine C_4.

Nous constatons que dans cette série d'expériences, la fixation reste à peu près inchangée, aux erreurs d'expériences près, par rapport à celle obtenue avec le salicylate pur.

TROISIÈME PARTIE

Tableaux résumés des résultats obtenus

Nous avons cru intéressant, avant de conclure, de grouper en deux tableaux résumés, l'ensemble des résultats que nous avons obtenus pour les perfusions d'une part, d'autre part pour les fixations.

PERFUSIONS AVEC	Moyenne des résultats obtenus.		Pourcentage de variation de toxicité.	
	TROUBLES CARDIAQUES (cgr p K)	MORT (cgr p K)	TROUBLES CARDIAQUES (cgr p K)	MORT (cgr p K)
Solution de Salicylate pur à 10%	75,8	113		
Solution de Salicylate à 10% renfermant 1 cgr % de vitamine B_1	57,1	97,9	Augmentation de 31%	Augmentation de 15%
Solution de Salicylate à 10% renfermant 3 cgr % de vitamine B_1	72,2	103,55	Augmentation de 4%	Augmentation de 8,2%
Solution de Salicylate à 10% renfermant 1 gr % de Vit. C.	83.	116,4	Diminution de 10%	Diminution de 3%

TABLEAU RESUME RELATIF AUX PERFUSIONS

(EXPÉRIENCES SUR LE CHIEN)

Ce tableau met en relief le fait que les pourcentages d'augmentation ou de diminution de toxicité qui résultent des expériences de perfusions n'ont vraiment pas une grande valeur. Ils sont dans l'ensemble à peine égaux aux erreurs d'expériences et seul semble à retenir le chiffre de 31 % d'augmentation par rapport à la solution de salicylate pur obtenu avec la vitamine B_1.

Injections intra veineuses (22 cc p. K.) de solutions de	Moyenne des résultats (quantité d'acide salicylique, en mgr., fixée dans 100 gr. de		Pourcentage de variation de fixation	
	Cœur	Sérum	Cœur	Sérum
Salicylate à 10 % glucosé à 10 %	8,95	64,4		
Même solution + 10 cgr % vit C	9,02	56,90	Augm. 0,67 %	Diminu. 13 %
Même solution + 5 cgr % vit C	9,7	58	Augm. 8,37 %	Diminu. 11 %
Même solution + 25 cgr % vit C	15,89	27,8	Augm. 77 %	Diminu. 71 %
Même solution + 50 cgr % vit C	19,81	58,35	Augm. 122 %	Diminu. 10 %
Même solution + 1 gr % vit C	29,85	82	Augm. 233 %	Augm. 28,7 %
Même solution + 2 gr % vit C	23,46	60,95	Augm. 158 %	Diminu. 5,6 %
Même solution sur chien "chargé" en vit C	8,16	46,70	Diminu. 9,7 %	Diminu. 38 %

TABLEAU RESUME RELATIF AUX FIXATIONS

(EXPÉRIENCES SUR LE CHIEN)

Avec les fixations, les résultats sont beaucoup plus probants ; il est rare que le pourcentage de variation de toxicité soit de l'ordre des erreurs d'expériences ; la plupart du temps au contraire, c'est un chiffre assez important.

Avec la vitamine C, nous pouvons suivre l'augmentation qui semble être sensiblement proportionnelle aux quantités de ce corps introduites dans les solutions injectées et qui est maxima avec 1 gr. %.

Conclusions et essais d'explications des résultats obtenus

I

SALICYLATE ET VITAMINE B_1

A. — *EXPERIENCES DE TOXICITE : PERFUSIONS.*

Ces expériences nous permettent de constater une *augmentation de toxicité de* 15 % par rapport à la solution de salicylate pour la quantité de solution entraînant la mort, dès qu'on introduit de la vitamine B_1 dans cette solution. Les troubles cardiaques apparaissent beaucoup plus rapidement et il y a une augmentation de 31 % sur la dose de solution de salicylate pur qui détermine leur apparition. Le pourcentage d'augmentation étant bien supérieur aux erreurs expérimentales, nous pouvons admettre en définitive que la vitamine B_1 accroit la toxicité. L'augmentation de cette dernière pourrait peut-être en partie s'expliquer par le fait que la vitamine B_1 est déjà par elle-même toxique et convulsivante.

B. — *EXPERIENCES DE FIXATIONS.*

Les quantités d'acide salicylique fixées au niveau du cœur dans le sang et dans les urines *semblent rester les mêmes* ; aux erreurs d'expérience près, qu'avec la solution de salicylate pur et dans ce cas nous nous croyons autorisée à conclure que l'introduction de vitamine B_1 dans la solution de salicylate de soude ne modifie en rien les fixations.

En définitive, nous pensons que la vitamine B_1 ne modifie pas sensiblement l'action du salicylate de soude et que son association médicamenteuse avec ce corps n'est pas particulièrement intéressante.

II

SALICYLATE ET VITAMINE C

Les conclusions relatives à cette association sont beaucoup plus intéressantes.

A. — *TOXICITE.*

D'une manière générale, elle paraît peu changée, sauf peut-être une légère diminution ; on ne peut, en effet, pas accorder de valeur absolue aux chiffres de 2 % (relatif à l'augmentation par rapport au salicylate) qui la caractérise car cette infime proportion risque d'être le fait des seules erreurs d'expériences.

(1) Toxicité cardiaque (perfusions) : Elle est pratiquement sans modifications. Tout au plus, pouvons-nous signaler que l'apparition des troubles cardiaques est très légèrement retardée.

(2) Toxicité générale. — Ces expériences ne sont pas non plus très précises et évidemment critiquables. Nous croyons cependant pouvoir conclure que la vitamine C, dans ce cas, si elle ne diminue pas la toxicité générale du moins ne l'augmente pas.

B. — *FIXATIONS.*

Les expériences de ce groupe sont certainement les plus intéressantes et les plus nettes, surtout celles relatives à la fixation au niveau du myocarde.

(1) Sang et Urines. — Pour les fixations dans ces deux milieux organiques, nous ne pouvons pas conclure à de grands changements ; tout au plus une légère diminution semble-t-elle apparaître mais par là nous ne pouvons guère tenir compte des chiffres obtenus car nous nous sommes trouvées, dans plusieurs cas, dans l'impossibilité de faire le dosage, soit parce que nous n'avions pas pu recueillir des quantités suffisantes de sang, soit parce que nous étions gênées dans le dosage des urines par une coloration de ces dernières qui apparaissait dans l'éther extractif.

(2) Cœur : Les chiffres que nous avons obtenus concernant la fixation du salicylate de soude au niveau du myo-

carde sous l'influence de la vitamine C, nous paraissent suffisamment probants pour que l'on puisse admettre — compte tenu des erreurs inévitables d'expériences — qu'il y a là une très nette et indiscutable augmentation. Naturellement, nous avons essayé d'expliquer à quoi était dû ce phénomène. D'abord, il nous a paru que la *présence simultanée de salicylate de soude et de vitamine C était nécessaire* pour que l'accroissement de fixation ait lieu puisqu'elle n'apparaît pas sur les chiens « chargés » en vitamine C, c'est-à-dire possédant dans leurs humeurs la quantité d'acide ascorbique suffisante pour que l'effet recherché puisse avoir lieu. Il apparaît donc que c'est le mélange réalisé « in vitro » qui agit.

Il nous a semblé dès lors intéressant d'étudier le comportement de ce mélange. Nous avons dans ce but mis en contact du salicylate de soude et de la vitamine C dans la même solution et nous avons étudié l'état de la vitamine C dans ce milieu. Nous aurions voulu suivre également le comportement du salicylate de soude mais nous n'avons pas pu trouver de dosage facile de ce corps en présence d'acide ascorbique. Nous nous proposons d'ailleurs, dès que les circonstances nous le permettront, d'étudier de plus près cette question.

Les expériences réalisées nous ont permis de constater tout d'abord que l'acide l-ascorbique se *décompose beaucoup plus vite en présence du salicylate de soude qu'en solution aqueuse.*

Nous avons étudié cette décomposition « in vitro » en utilisant une solution dans laquelle le rapport vitamine salicylate était le même que celui qui nous avait donné les meilleurs résultats pour les fixations, c'est-à-dire 1/10.

C'est là l'objet d'une PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES dans lesquelles nous avons suivi la *destruction de la vitamine C. en solution aqueuse pure* d'une part, *en solution salicylée* d'autre part ; nous avons donc préparé une solution de vitamine C à 1 % dans l'eau et une solution renfermant 0,2 % de vitamine C et 2 % de salicylate ; les *flacons* contenant ces solutions étaient *entourés de papier noir* et *laissés dans un placard* à la *température ambiante.*

Nous avons pratiqué les dosages *toutes les semaines* pendant *8 semaines.*

Voici les PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX que nous avons utilisés pour suivre la décomposition de la vitamine C :

DOSAGES CODEX : (1) Méthode acidométrique qui consiste essentiellement à titrer l'acide ascorbique par une solution de soude : 1 cc. de la solution N/10 de soude = 0,0176 d'acide ascorbique. Le dosage se fait en présence d'hélianthine.

(2) Dosage iodométrique : On titre la solution d'acide ascorbique par une solution d'iode en présence d'empois d'amidon : 1 cc. de la solution N/10 d'iode = 0,0088 d'acide ascorbique.

Dosage au dichlorophénol : Nous nous sommes servi pour ce dosage des comprimés de dichlorophénol-indophénol utilisés pour le dosage dans l'urine de la vitamine C.

1 comprimé correspond à 1 mg. d'acide l-ascorbique.

M.O. — On acidifie 10 cc. du liquide à analyser (convenablement dilué si nécessaire), avec environ 1 cc. d'acide acétique glacial. On titre cette solution en y faisant couler d'une burette le colorant (préparé par dissolution d'un comprimé dans 10 cc. d'eau distillée) jusqu'à ce qu'apparaisse une coloration rose se maintenant environ 30 secondes.

La quantité de colorant employée étant 10 cc., 100 cc. du liquide contiennent d/10 mgr. % d'acide ascorbique.

Le dosage iodométrique, de même que celui au dichlorophénol s'appliquait aussi bien à la vitamine C en solution aqueuse qu'à la solution de salicylate vitaminée ; mais pour réaliser le mélange, salicylate-vitamine C aux concentrations que nous avons utilisées, nous avons dû alcaliniser le milieu avec une très petite quantité de lessive de soude pour empêcher la précipitation d'acide salicylique qui ne manque pas de se produire différemment et le dosage acidimétrique devenait de ce fait impraticable dans le cas de ce mélange.

Voici le tableau groupant les résultats de notre première série d'expériences chimiques (Tableau A).

Modes de dosages :	Solutions de :	Pourcentage de Vitamine C le :							
		28 Oct	4 Nov	11 Nov	18 Nov	25 Nov	2 Déc	9 Déc	16 Déc.
Acidimétrique	Vitamine C à 2 %	0,98	0,95	0,88	0,85	0,83	0,82	0,80	0,60
Iodométrique	Vitamine C à 2 %	0,97	0,93	0,89	0,83	0,80	0,80	0,78	0,58
	Vitamine C à 0,2 % + 2 % salicylate	0,95	0,88	0,83	0,78	0,73	0,60	0,57	0,40
Dichlorophénol-indophénol.	Vitamine C à 2 %	0,96	0,93	0,87	0,82	0,80	0,78	0,75	0,60
	Vitamine C à 0,2 % + 2 % salicylate	0,98	0,93	0,85	0,80	0,76	0,66	0,63	0,54

TABLEAU A

Nous constatons bien que, A TEMPÉRATURE ORDINAIRE, LA VITAMINE C SE DÉCOMPOSE BEAUCOUP PLUS VITE LORSQU'ELLE EST EN SOLUTION AVEC DU SALICYLATE QUE LORSQU'ELLE SE TROUVE EN SOLUTION AQUEUSE.

Pour nous rapprocher davantage des conditions d'expériences réalisées « in vivo » sur les chiens, nous avons, dans une SECONDE SÉRIE réalisé le dosage de *solutions identiques* aux *précédentes* mais placées cette fois à l'*étuve à 37°*.

Nous avons toutefois abandonné le dosage acidimétrique applicable à la seule soluttion aqueuse de vitamine C. Nous avons pratiqué les dosages *tous les deux jours* pendant 8 jours seulement.

Les résultats que nous avons obtenus sont groupés dans le tableau suivant : (Tableau B).

Modes de dosages:	Solutions de :	Pourcentage de Vitamine C le :			
		25 Déc.	27 Déc.	29 Déc.	31 Déc.
Iodométrique	Vitamine C à 1%	0.98	0.88	0.86	0.80
	Vitamine C à 0,2% + 2% salicylate	0,98	0,14	0.11	0 08
Dichlorophénol-indophénol.	Vitamine C à 1%	0.99	0.90	0.87	0.82
	Vitamine C à 0,2% + 2% salicylate.	0.98	0.18	0.12	0 09

TABLEAU B

Cette seconde série d'expériences prouve bien que LA CHALEUR AUGMENTE LA RAPIDITÉ DE DÉCOMPOSITION DE LA VITAMINE C, EN SOLUTION AQUEUSE ET SURTOUT EN SOLUTION SALICYLÉE. C'est cette rapidité de décomposition de la vitamine placée dans ces conditionss qui nous a amenée à pratiquer les dosages tout au long d'une *même journée* de *deux heures en deux heures*, puis *d'heure en heures*, de solutions identiques aux précédentes. C'est là l'objet d'une TROISIÈME SÉRIE d'expériences dont nous exposons les résultats dans le Tableau C.

Modes de dosages :	Solutions de :	Pourcentage de Vitamine C à :						
		9 heures	11 heures	13 heures	14 heures	15 heures	16 heures	17 heures
Iodométrique	Vitamine C à 1%	0,99	0,97	0,95	0,90	0,89	0,88	0,87
	Vitamine C à 0,2% + 2% salicylate	0,98	0,54	0,32	0,28	0,22	0,21	0,19
Dichlorophénol-indophénol.	Vitamine C à 1%	0,99	0,98	0,97	0,89	0,89	0,89	0,88
	Vitamine C à 0,2% + 2% salicylate	0,99	0,56	0,33	0,25	0,24	0,23	0,21

TABLEAU C

En définitive,

CES EXPÉRIENCES CHIMIQUES MONTRENT BIEN QUE LA VITAMINE C SE DÉCOMPOSE « IN VITRO » BEAUCOUP PLUS VITE EN PRÉSENCE DE SALICYLATE DE SOUDE QU'EN SOLUTION AQUEUSE SURTOUT A L'ÉTUVE A 37° ET PENDANT LES PREMIÈRES HEURES, et nous avons pensé que ce phénomène de décomposition que nous avons observé « in vitro » pouvait se produire « in vivo » et même plus rapidement.

— Pour ce qui est de l'augmentation de fixation obtenue avec la vitamine C, il semble par ailleurs, qu'elle soit sensiblement proportionnelle aux quantités de ce corps adjointes à la solution primitive de salicylate ; mais ceci n'apparait que jusqu'à une certaine limite de pourcentage de l'acide ascorbique : en pratique de 5 cgr. % à 100 cgr. % de ce corps.

Cette relation entre l'augmentation de fixation et l'accroissement des quantités de vitamine C introduites dans les solutions injectées, a attiré notre attention : en effet, nos expériences consistent à doser le salicylate à l'état d'acide salicylique par la méthode colorimétrique au perchlorure de fer. La question se posait automatiquement de savoir si la vitamine C n'était pas déjà, par elle-même capable de donner une réaction colorée avec le perchlorure, ce qui aurait pu être à la base d'une augmentation dans l'intensité des colorations obtenues. Quelques expériences réalisées « in vitro » avec VITAMINE C ET PERCHLORURE aux proportions réalisées pratiquement dans nos expériences, nous ont montré qu'il n'y avait AUCUNE RÉACTION ENTRE LES DEUX : donc l'augmentation de coloration ne provient pas de là.

Une deuxième hypothèse s'imposait également : Ne pouvait-il pas, au cours de nos expériences, se former entre le salicylate et la vitamine mis en solution, un complexe susceptible d'augmenter la coloration par le perchlorure de fer au moment des dosages ; pour nous en rendre compte, nous avons réalisé les expériences suivantes : nous avons mis en contact dans un tube à essai une *certaine* quantité de solution *d'acide salicylique à* 0,02 *gr.* % et la *même quantité* du *réactif ferrique glycériné* que nous utilisions pour nos dosages. Nous avons immédiatement noté l'*apparition de la couleur violette caractéristique*. Ayant, dans une série de tubes, réalisé le *même mélange*, nous avons ajouté à chaque tube des *quantités de vitamine C décroissant de* 1 *gr.* % *jusqu'à* 2 *mgr* %, partout est apparue une *coloration violette excessivement fugace* persistant tout au plus quelques secondes dans les conditions les plus favorables, à son existence, c'est-à-dire celles où la proportion d'acide salicylique était très nettement supérieur à celle de l'acide ascorbique.

Nous avons alors voulu voir si le phénomène était le même en présence de *salicylate de soude*. Nous avons réalisé une *solution à 1 % de sel* et à 10 *cc. de cette solution*, nous avons ajouté 2 *cc. de perchlorure de fer* : nous avons immédiatement obtenu la *coloration rouge violet*. Nous avons alors introduit dans 10 *autres cc. de cette solution* de la *vitamine C* dans la proportion de 1 %. Comme avec l'acide salicylique, nous n'avons obtenu, en présence de 2 *cc. de perchlorure de fer* qu'une *coloration fugace*. Pour nous rapprocher davantage des conditions de nos expériences, nous avons refait cette réaction colorimétrique sur une *solution de salicylate à 10 %* renfermant 1 % de vitamine C. Dans ce cas encore, la *coloration a disparu* très rapidement.

Par ailleurs, la réaction de coloration avec le perchlorure de fer étant strictement une réaction de la fonction phénolique, nous avons été amenés à penser que du moment où elle ne se produit plus si on introduit de l'acide ascorbique dans le milieu c'est que l'OH phénolique est bloqué par ce dernier. Dans ces conditions, il est possible qu'il y ait FORMATION D'UN COMPLEXE que nous pourrions envisager par exemple comme un salicylate double d'acide ascorbique et de sodium et qui serait à la base de l'augmentation de fixation obtenue. Or, lorsque nous réalisons nos dosages, nous détruisons le produit fixé au niveau du myocarde qu'il soit fixé sous forme du complexe que nous venons d'envisager ou sous forme de salicylate ; quoiqu'il en soit, nous le dosons à l'état d'acide salicylique et puisque la réaction colorimétrique se produit, c'est qu'il n'y a plus de vitamine C libre dans le milieu ; mais dans ce cas, nous pouvons également nous demander si l'acide salicylique que nous dosons ainsi correspond réellement à la totalité du salicylate fixé sur le cœur, une partie de celui-ci ayant très bien pu rester définitivement combinée à l'acide ascorbique introduit dans nos solutions.

En définitive, il semble bien cependant que nous puissions envisager l'existence de ce COMPLEXE COMME SUSCEPTIBLE D'AUGMENTER LA FIXATION DU SALICYLATE AU NIVEAU DU MYOCARDE SOUS UNE FORME COMBINÉE.

Donc, le produit qui a pu se former NE RISQUE PAS D'AUGMENTER LA COLORATION obtenue avec le perchlorure de fer au moment de nos dosages.

En étudiant de plus près l'augmentation de fixation constatée lorsqu'on ajoute de l'acide ascorbique au soluté officinal de salicylate, nous constatons que celle-ci est très faible et de l'ordre des erreurs d'expériences pour la dose de 5 cgr % de ce corps. Mais nous croyons devoir signaler ici que cette série d'expériences a été réalisée avec de la vitamine C commerciale en solution conservée en ampoules et

nous avons eu des doutes sur son efficacité car nous la savons très labile. Nous avons, pour nous rendre compte, essayé de pratiquer des dosages sur ces ampoules ; malheureusement, ceux-ci n'ont donné aucun résultat à cause, sans doute, de l'incorporation d'une substance réductrice en même temps que l'acide ascorbique. Le nombre de nos animaux d'expérience étant restreint, nous n'avons pu, ainsi que nous l'aurions désiré, refaire une série d'expériences avec de la vitamine C pure cristallisée à la même dose. Nous nous sommes donc contentés d'employer uniquement cette dernière pour toutes nos autres expériences.

A partir de 25 cgr % de vitamine C cristallisée, nous avons pu noter un accroissement de fixation considérable puisque, dès cette série, le chiffre qui le traduit est de beaucoup supérieur aux erreurs d'expériences.

L'augmentation se poursuit ensuite régulièrement jusqu'à la dose de 1 gr. pour cent.

Mais à partir de 2 gr. %, le pourcentage d'augmentation est inférieur à celui obtenu pour 1 % d'acide ascorbique. Ceci pourrait peut-être trouver une explication dans le fait que, au dessus d'un certain pourcentage de vitamine C dans la solution de salicylate injectée, on atteint l'état de saturation de l'organisme. En effet, d'après les données fournies par Giroud et Ratsimamanga et dont nous avons déjà parlé à propos de la vitamine C, il ne serait pas possible, dans l'organisme, d'élever le taux de ce corps au-dessus du taux normal. Dans le cas où celui-ci serait dépassé, l'excès d'acide ascorbique se détruirait dès qu'on approche de l'état de saturation. Peut-être est-ce là ce qui se produit dès que l'acide ascorbique de la solution injectée atteint la proportion de 2 gr. %. La quantité d'acide salicylique fixée au niveau du cœur, dans le sérum et dans les urines n'est plus alors celle qui correspond à une solution de salicylate de soude renfermant 2 gr. % de vitamine C mais bien une proportion de ce corps inférieure à 2 gr. %.

Nous avons également pensé que cette diminution de fixation obtenue avec 2 % de vitamine C par rapport à celle obtenue avec 1 % de ce même corps, pouvait s'expliquer par le fait de la carence de nos animaux en acide ascorbique. Cette carence, qui pouvait exister chez tous, a pu être, par un concours de circonstances, beaucoup plus marquée chez les animaux de notre dernière série. Dans ces conditions, la majeure partie de la vitamine introduite aurait pu être utilisée pour compenser la carence, une faible partie restant apte à augmenter la fixation.

Dans toutes nos expériences, d'ailleurs, cette carence a pu intervenir dans nos résultats et il est très possible que la

vitamine C ainsi introduite dans l'organisme ait augmenté la fixation du salicylate sur le cœur simplement en permettant aux animaux carencés en acide ascorbique de rétablir leur équilibre en ce corps, l'état de vitaminisation normal ainsi obtenu redonnant à tous leurs organes la vitalité nécessaire à leur fonctionnement optimum. Ce pouvoir « régénérateur » et « vivifiant » de l'organisme est évidemment très vaste et assez peu défini.

Quoi qu'il en soit, l'acide l-ascorbique, terme de passage entre les vitamines et les hormones, dont le rôle important dans les oxydations cellulaires est parfaitement connu, pourrait fort bien, par le fait que sa seule introduction dans l'organisme à des doses convenables en augmente le potentiel de vie, agir électivement sur le tissu musculaire du myocarde pour permettre à son niveau une plus grande possibilité de fixation du salicylate.

Nous nous rendons compte cependant qu'il y a contradiction apparente entre certains résultats de nos expériences de fixations et certains de ceux de nos expériences de toxicité, puisque, loin d'aller de pair avec une augmentation de toxicité — comme cela paraîtrait logique de prime abord — l'augmentation de fixation se produit sans que la toxicité subisse de changement notable. Mais il est possible que le pouvoir antitoxique propre de la vitamine C neutralise l'augmentation de toxicité qui découle de l'augmentation de fixation, fait qui permettrait de comprendre le phénomène en apparence surprenant.

En définitive, parmi tant d'hypothèses qui s'offraient pour expliquer cet accroissement de fixation au niveau du myocarde, celle-ci nous a paru la meilleure à retenir, parce que la plus simple, et c'est ce que nous avons pensé pouvoir faire.

Lu et approuvé
Le Président de Thèse
MERCIER

Lu et approuvé
Le Doyen
L. CORNIL

Vu et permis d'imprimer
Marseille, le 23 Mai 1944
P. le Recteur et p. o.
Le Doyen de la Faculté
L. CORNIL

Bibliographie

BERZSSONOFF, WOLOSZYN et LEROUX. — *Zeitschrift für Vitaminforschung Band* 13. Heft 1/2, 1943, p. 37.

BOCHEFONTAINE. — *C.R.S.B.*, t. 30, p. 285, 1878. *C.R.S.B.*, p. 412, 1884.

BOCHEFONTAINE et BLANCHIER. — *C.R. Ac. Méd.*, t. 85, p. 574, 1878. *C.R. Ac. Méd.*, t. 87, p. 658.

BOCHEFONTAINE et CHABERT. — *C.R.S.B.*, p. 144, 1884.

BOULANGER. — Exposés annuels de Biochimie Médicale, 1re série 1939.

DELPHAUT. — *Thèse Médecine Marseille* 1936.

FLORKIN. — Biochimie Générale. *Masson* 1943.

GIROUD. — Ergebnisse der vitamin - und hormonforschung 1938, p. 69.

GIROUD. — *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, Avril-Juin 1943, p. 131.

GIROUD et RATSIMAMANGA. — Actualités Scientifiques et Industrielles 921 (Masson).

JOUFFRET. — *Thèse Pharmacie*, Marseille 1939.

JACQUOT. — *Bulletin de la Société d'Hygiène.*

KOEHLER. — *Zentr. fur. mediz. Wissench.* n° 10, p. 161, 1876.

KOLBE et LAUTEMANN. — *Ann. der. chim. und Pharm.* t. 105, p. 157. *Répert. chimie pure*, t. 860, p. 569, 1868.

KUMAGAWA. — *Arch. path. anatom.* t. 134, p. 394, 1898.

LUTEMBACHER. — *C.R.S.B.* t. 1, p. 921, 1921. *Presse Méd.* 10 mai 1930. *Presse Méd.* 9 nov. 1921. *Siècle Méd.* Avril 1944.

PARIS. — *Thèse Pharmacie*, Marseille 1941.

POLONOWSKY. — Eléments de Biochimie Médicale (*Masson* 1942), p. 215.

ROUX. — *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, Avril-juin 1942.

SÉE. — *Bull. Ac. Méd.* t. 6, p. 689, 1877.

THIERSCH. — *Sammeling Klin.* Vortrage, p 84, 1875.

Table des matières

AVANT-PROPOS 13

PREMIERE PARTIE : *Le Salicylate de soude* 17
La Vitamine B_1 22
La Vitamine C 26

DEUXIEME PARTIE : *Plan de nos recherches* 37
Détail des techniques expérimentales utilisées 40
Résultats expérimentaux :
I Salicylate de soude et Vitamine B_1 44
Perfusions 44
Fixations 48
II Salicylate de soude et vitamine C :
Toxicité : cardiaque (perfusions) 51
générale 52
Fixations 55

TROISIEME PARTIE : *Tableaux résumés des résultats obtenus* 65
Conclusions et essais d'explications des résultats obtenus :
I Salicylate et Vitamine B_1 . . 67
II Salicylate et Vitamine C . . 68

BIBLIOGRAPHIE 77